ACTA MICROBIOLOGICA POLONICA

microbiologia generalis,
agrobiologica et technica

Vol. I No 3

1 9 5 2

COMMONWEALTH MYCOL... INSTITUTE
6 FEB 1953

ACTA MICROBIOLOGICA POLONICA są kwartalnym organem Sekcji Mikrobiologii Ogólnej, Rolniczej i Przemysłowej P. T. M.

PRZEPISY AUTORSKIE

Jako materiał publikacyjny mogą być nadsyłane rozprawy i komunikaty dotyczące prac oryginalnych z dziedziny mikrobiologii ogólnej, rolniczej i przemysłowej oraz referaty przeglądowe nigdzie dotychczas nie publikowane.

Jednostronne maszynopisy o podwójnych odstępach, z marginesem 4 cm, należy przysyłać w 2 egz. na ręce sekretarza: Zakład Mikrobiologii Ogólnej UMCS, Lublin, ul. Stalingradzka 85.

Aż do odwołania obowiązuje w zasadzie stosowanie się do pisowni wg Jodłowskiego i Taszyckiego, wyd. 2, r. 1951.

Do prac pisanych po polsku należy dołączyć streszczenie rosyjskie, oraz angielskie, francuskie lub niemieckie. Streszczenia powinny zawierać zasadnicze konkluzje pracy i nie powinny przekraczać 15% tekstu. Prace w obcym języku (rosyjski, angielski, francuski, niemiecki) mogą być nadsyłane po uprzednim porozumieniu się z redakcją; należy do nich dołączyć streszczenie polskie i rosyjskie lub polskie i angielskie (francuskie, niemieckie). Każda praca powinna być zaopatrzona w tytuł (w języku publikacji oraz streszczenia), nazwisko i inicjały autora(-ów), nazwę i adres zakładu, w którym wykonano pracę.

Pożądany jest następujący układ prac: a) krótki wstęp, b) metody badania, c) wyniki, d) dyskusja i wnioski, e) krótkie streszczenie w języku polskim — nie więcej niż 3% tekstu, f) piśmiennictwo, g) streszczenia obcojęzyczne (nie dłuższe niż 15% tekstu).

Prace należy ujmować treściwie; wstęp powinien zawierać tylko dane bezpośrednio odnoszące się do opracowanego tematu; metody należy opisywać krótko; tam gdzie to możliwe powoływać się na oryginalne opisy metod.

Wyniki mogą być ilustrowane tablicami i wykresami, należy jednak unikać tablic i wykresów dla przedstawienia tych samych danych. Wykresy i tablice powinny być możliwie przejrzyste i nieskomplikowane i ilustrować zasadnicze i istotne wyniki. Rysunki i wykresy należy sporządzać w 2-krotnym powiększeniu, tuszem na bristolu bez połysku — każdy na oddzielnej kartce zaopatrzonej na odwrocie w wypisane ołów-

POLSKIE TOWARZYSTWO MIKROBIOLOGÓW
SEKCJA MIKROBIOLOGII OGÓLNEJ, ROLNICZEJ I PRZEMYSŁOWEJ

ACTA MICROBIOLOGICA POLONICA

microbiologia generalis,
agrobiologica et technica

Vol. I No. 2

ERRATA

Str.	wiersz	wydrukowano	winno być
191	10 od góry	baktetrii	bakterii
241	15 „ dołu	C. cecebella	C. cerebella
245	14 „ góry	zanieczyszczenie	zanieczyszczenia
252	8 „ dołu	kotynuuje	kontynuuje
268	9 „ „	Batuletum	Betuletum

1952
PAŃSTWOWE WYDAWNICTWO NAUKOWE

KOMITET REDAKCYJNY

Jadwiga Ziemięcka, członek koresp. P.A.N. (redaktor) — Lublin,
Władysław Kunicki-Goldfinger (sekretarz naukowy) — Lublin,
Kazimierz Bassalik, członek tytularny P. A. N. — Warszawa,
Jadwiga Jakubowska — Łódź, —:— Adolf Joszt — Gliwice,
Eugeniusz Pijanowski, członek koresp. P. A. N. — Warszawa

SEKRETARZ TECHNICZNY
Kazimierz Dygdała — Lublin

Adres redakcji: Lublin, ul. Stalingradzka 85

PAŃSTWOWE WYDAWNICTWO NAUKOWE — WARSZAWA 1952

Nakład 1 000	*Zamówienie 1922*
Arkuszy wyd. 7 Druk. 6	*Druk ukończono 10.X.52*
Papier druk. sat. V, 70 g, 70×100	*A—3—21144*

DRUKARNIA PRASOWA — LUBLIN, BUCZKA 12

B. Guzowska, B. Orzechowska i Wł. Kunicki-Goldfinger

WŁASNOŚCI FITONCYDÓW CEBULI *ALLIUM CEPA* L., CZ. I

Z Zakładu Mikrobiologii Ogólnej i z Zakładu Zoologii Ogólnej
Wydziału Biologii i Nauki o Ziemi UMCS w Lublinie

Wpłynęło dn. 5.II.1952 r.

Chemiczna budowa czynnych antybiotycznie substancji cebuli nadal pozostaje niewyjaśniona. Wyosobniony z soku cebuli n-propylthiol (Pratt i Dufrenoy, 1949) prawdopodobnie nie jest naturalnym składnikiem soku rośliny, a powstaje dopiero w czasie zabiegów mających na celu wyosobnienie i oczyszczenie antybiotyku.

Badania radzieckich biologów, którzy przebadali zasięg antybiotycznego działania soku cebuli, nie doprowadziły dotychczas do wyjaśnienia tego zagadnienia (przegląd prac radzieckich zawarty jest w monografii Tokina, 1951).

Znacznie dokładniejsze informacje posiadamy już o ciałach antybiotycznych czosnku. Badania radzieckie, prace Stolla i Seebecka (1947), Cavalito i Bailey'a (1949) oraz Szymony (1952) rzuciły nieco światła na problem budowy chemicznej i na mechanizm działania tych ciał na drobnoustroje.

Celem obecnej pracy jest uzyskanie danych dotyczących budowy i sposobu działania fitoncydów cebuli, które podobnie jak fitoncydy czosnku od dawna były stosowane w medycynie ludowej.

BADANIA WŁASNE. MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Jako źródło fitoncydów służyły cebulki wyłącznie jednej rasy *Allium cepa*, zebrane z jednego poletka w 1950 r.

Aktywność antybiotyczną fitoncydów badano na czystym klonie *Paramaecium aurelia E.*, hodowanym na pożywce z sałaty (Kudo, 1947). Do prób pobierano materiał z hodowli znajdujących się w optymalnej fazie wzrostu, w których nie obserwowano konjugacji.

Siłę *pierwotniakobójczą* fitoncydów mierzono odwrotnością czasu ich działania, potrzebnego do zabicia połowy osobników, pomnożoną przez 100. W ten sposób preparat zabijający połowę osobników w ciągu 100 minut ma siłę równą 1 jednostce, preparat dający ten sam efekt w ciągu 10 minut — siłę 10 jednostek. O jakości ciał antybiotycznych sądzono na podstawie zmian morfologicznych, zachodzących u pierwotniaków pod wpływem fitoncydów.

Przy badaniu lotnych frakcji umieszczano 1 g badanej substancji (miazga cebulowa, wyciąg itp.) w płytce Petriego; nieco z boku i 1,5 cm ponad badaną substancją ustawiano szkiełko podstawowe z naklejonym przy pomocy balsamu kanadyjskiego pierścieniem gumowym o wewnętrznej średnicy 0,7 cm. Wewnątrz pierścienia znajdowała się określonej objętości kropla hodowli *P. aurelia*, zawierająca 15—20 osobników. Badając frakcje nielotne do kropli hodowli pantofelków dodawano odpowiednią ilość badanego płynu.

WYNIKI I DYSKUSJA

Zmiany w komórce *P. aurelia* wywołane działaniem świeżej miazgi cebuli. Obraz zmian morfologicznych zgadzał się w zasadzie z opisami Tokina i jego współpracowników (Tokin, 1951). Rozróżniono trzy fazy. W pierwszej — trwającej 5—6 minut od momentu zadziałania, stwierdza się przyspieszenie ruchu, niekiedy słabe napęcznienie komórek. W fazie drugiej ulega zakłóceniu ruch postępowy komórek, pojawiają się ruchy wirowe; wyraźnie występuje pęcznienie ciała, końce komórek zaokrąglają się. Ruch rzęsek staje się nieskoordynowany. W cytoplazmie i w *macronucleus* pojawiają się ziarnistości. Faza ta kończy się po upływie około 12 minut od momentu zadziałania fitoncydami, przy czym ruch zostaje w zupełności zahamowany i zanikają wszelkie zewnętrzne oznaki czynności życiowych. Na powierzchni ciała, często jeszcze przed ustaniem ruchu, pojawiają się przezroczyste pęcherze. W trzeciej fazie, już pośmiertnej, komórka ulega zupełnej lizie.

Odwracalność zmian wywoływanych przez fitoncydy. Tokin i jego szkoła, a szczególnie Kowalenok (cytowane wg Tokina, 1951), wielokrotnie podkreślają, że zmiany wywołane przez fitoncydy cebuli w komórce *Paramaecium* mają charakter nieodwracalny, nawet w początkowych fazach działania. W celu zbadania tego problemu poddawano pierwotniaki działaniu lotnych fitoncydów przez określony czas (1, 2, 3.... minut), po czym usuwano je z atmosfery fitoncydów, dwukrotnie przemywano wodą źródlaną i przenoszono do czystej wody na szkiełku zegarkowym, obliczając ilość osobników przeżywających po upływie 1, 2, 3 i więcej dni. Wyniki typowego doświadczenia ilustruje tabl. I.

Tablica I

Odwracalność zmian wywoływanych u *P. aurelia* przez fitoncydy cebuli

Обратимость изменений, вызываемых у *P. aurelia* фитонцидами лука

The reversibility of protistocidal effect of A. c.-phytoncides on *Paramaecium aurelia*

Czas działania fitoncydów na *Paramaecia* (w min.)	Ilość żywych osobników przeniesionych do hodowli	Ilość żywych osobników w hodowli po upływie dni:					
		1	2	3	4	5	6
1	15	9	13	14	16	15	17
2	20	15	14	11	13	11	14
3	20	9	8	12	15	15	23
4	13	11	17	19	19	19	19
5	28	4	4	5	7	6	5
6	20	2	—	—	—	—	—
7	16	—	—	—	—	—	—
8	16	—	—	—	—	—	—
9	16	—	—	—	—	—	—

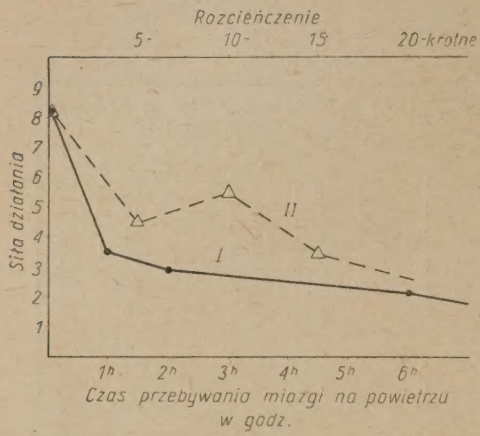
(wg Magdziak A., 1951).

Świadczą one, że zmiany obserwowane w pierwszej fazie działania (do piątej minuty) są w pełni odwracalne. Potwierdzają to również badania nad dyfuzją fitoncydów w parafinie (str. 179), w których wykazano odwracalność zmian nawet wówczas, gdy w komórkach występowały już wyraźne objawy degeneracyjne (pęcznienie ciała, zaokrąglenie końców komórek). Dłuższy czas działania wywołuje zmiany nieodwracalne; osobniki, które im ulegają, jeśli nawet nie giną od razu, obumierają w ciągu następnych 24 godzin. Należy zaznaczyć, że nie zawsze można sądzić o nieodwracalności zmian na podstawie obrazu mikroskopowego. Niekiedy, przy braku jakichkolwiek objawów zewnętrznych w okresie początkowym, osobnik ulega zagładzie.

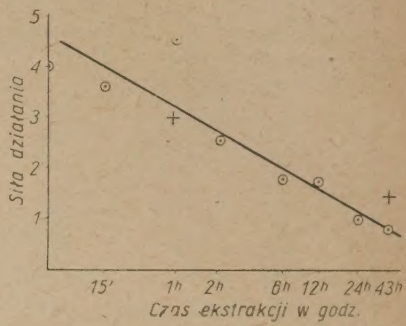
Zależność aktywności lotnych fitoncydów od świeżości miazgi i od jej rozcieńczenia (wyniki przedstawia rys. 1). Jak widać, aktywność miazgi maleje dość szybko w miarę przedłużenia okresu pozostawiania jej na powietrzu (krzywa I), oraz w miarę rozcieńczania jej wodą destylowaną (krzywa II). Dane przedstawione na rys. 1 posłużą nam jako materiał porównawczy w dalszych eksperymentach.

Ekstrahowanie miazgi parafiną płynną. Sama parafina jest w stosunku do pantofelków zupełnie obojętna. W doświadczeniach tych 1 g miazgi ekstrahowano 4 ml parafiny płynnej w ciągu 15 minut, po czym oddzielano ekstrakt od cząstek stałych przez dekantację. Do prób używano 1 g ekstraktu lub 1 g ekstrahowanej miazgi.

Własności pierwotniakobójcze ekstraktu parafinowego oraz ekstrahowanej miazgi scharakteryzowano przy pomocy rys. 2.



Rys. 1.



Rys. 2.

Rys. 1. — Zależność siły działania od świeżości (krzywa I) i rozcieńczenia (krzywa II) miazgi.

Зависимость силы действия от свежести (I кривая) и разбавления (II кривая) мезги

Замечание: Сила действия представлена в арбитрально принятых единицах (объяснение в тексте)

The influence of the time of preserving (curve I) and of the dilution (curve II) of the onion-pulp on the protistocidal action of A., c.-phytoncides.

Uwaga: Siła działania w arbitralnie przyjętych jednostkach (objaśnienie w tekście).

Rys. 2. — Wpływ czasu ekstrahowania miazgi parafiną na aktywność fitoncydów w ekstrakcie.

Влияние продолжительности экстрагирования мезги парафином на активность фитонцидов в экстракте

The influence of the time extraction of onion-pulp with paraffin-oil on the protistocidal activity of A. c.-phytoncides in the extract and extracted pulp (+).

Uwaga: Krzyżykami (+) oznaczono aktywność ekstrahowanej miazgi.

Zmniejszenie siły działania w miarę przedłużania czasu ekstrakcji jest zatem wyraźne, jednak zarówno ekstrakt, jak i miazga są czynne jeszcze po 43 godzinach, a więc znacznie dłużej niż miazga nie ekstrahowana. Tłumaczyć to można z jednej strony przechodzeniem fitoncydów do parafiny, gdzie nie podlegają już inaktywacji enzymatycznej, z drugiej strony — wytworzeniem warunków beztlenowych w miazdze.

Rozpuszczalność lotnych fitoncydów w parafinie badano również, powlekając kroplę hodowli warstwą parafiny o różnej grubości. Tak więc pantofelki w hodowli pokrytej jedną kroplą parafiny ginęły średnio po 27 minutach, pokryte dwiema kroplami — po 53 minutach.

W celu dokładniejszego przebadania tego zjawiska wykonano doświadczenia przy pomocy rurek dyfuzyjnych. Do kapilar wciągano pewną ilość hodowli, zawierającą kilkanaście osobników, po czym wciągano płynną parafinę. Otwarty wylot rurki w części zawierającej parafinę umieszczano w bezpośrednim sąsiedztwie miazgi cebuli. Otrzymano w ten sposób słup hodowli oddzielony od fitoncydów słupem parafiny określonej długości.

Okazało się, że na 13 doświadczeń, pierwotniaki uległy zabiciu tylko w dwóch. W innych stwierdzano chemotaksję ujemną — oddalanie się *Paramaecium* od końca rurki zwróconego do miazgi, oraz odwracalne zmiany morfologiczne (pęcznienie ciała), które z czasem zupełnie ustępowały.

O szybkości dyfuzji fitoncydów w wodzie i parafinie sądzono na podstawie czasu, jaki upływał pomiędzy momentem zadziałania fitoncydów a pierwszym objawem chemotaksji ujemnej (czas dyfuzji fitoncydów przez słup parafiny), oraz na podstawie czasu, jaki upływał od wystąpienia pierwszych oznak chemotaksji a chwilą zgromadzenia się pierwotniaków w oddalonym od parafiny końcu rurki (czas dyfuzji fitoncydów przez słup wody). Na podstawie tej metody, dającej zresztą tylko przybliżone wartości, wykazano, że szybkość dyfuzji fitoncydów w wodzie wynosi około 6 mm/min., a w parafinie tylko ok. 2 mm/min.

Należy podkreślić, że po zadziałaniu na *Paramaecia* miazgą ekstrahowaną za pomocą parafiny otrzymuje się niemal taki sam obraz zmian jak po działaniu świeżej miazgi. Natomiast ekstrakt parafinowy wywołuje nieco inne zmiany — bardzo rzadko pojawiają się pęcherze na powierzchni ciała, pęcznienie komórek jest znacznie słabsze.

Wydaje się, że lotne fitoncydy cebuli są łatwo rozpuszczalne w wodzie i dyfundują w niej dość szybko. Świadczyłoby to o występowaniu grup hydrofilowych w cząsteczkach czynnych substancji. Stosunkowo powolna dyfuzja w parafinie mogłaby być powodowana nie tylko mniejszą rozpuszczalnością czynnych substancji, ale również pewnego rodzaju wiązaniem ich przez parafinę. Wskazują na to doświadczenia z rurkami dyfuzyjnymi, w których nawet bardzo długa ekspozycja nie doprowadzała zwykle do śmierci pierwotniaków. Znaczną aktywność ekstraktu parafinowego można tłumaczyć tym, że w ekstrakcie ilość fitoncydów w stosunku do masy parafiny była bez porównania większa niż w doświadczeniach z rurkami dyfuzyjnymi. W ostatnim przypadku większość wnikających do parafiny fitoncydów ulegałaby związaniu, w pierwszym — wnika ich tak dużo, że tylko pewna część zostałaby związana, reszta zaś byłaby wydalana w postaci nie zmienionej. O tym, że parafina powo-

duje pewne przemiany fitoncydów, lub że ekstrahuje tylko pewne ich frakcje, świadczy inny obraz zmian morfologicznych wywoływanych u pierwotniaków przez ekstrakt.

Ekstrahowanie miazgi acetonem i alkoholem. Ekstrakcję przeprowadzano w ten sam sposób jak parafiną. Z uwagi na silne działanie pierwotniakobójcze par acetonu i alkoholu, ekstrakty odparowywano na szkiełku zegarkowym aż do zupełnego ulotnienia się acetonu lub alkoholu, co następowało po upływie 1—1½ godzin. Również miazgę ekstrahowaną badano dopiero po odparowaniu rozpuszczalników.

Zbadano wpływ długości okresu ekstrahowania na aktywność ekstraktu i miazgi oraz na trwałość działania pierwotniakobójczego ekstrahowanych fitoncydów. Osiągnięte rezultaty są przedstawione na rys. 3 i 4. Wyniki otrzymane przy ekstrakcji alkoholem były niemal identyczne jak te, które otrzymano przy użyciu acetonu.

Widoczne jest, że aceton ekstrahował fitoncydy lotne (rys. 3). Jednocześnie jednak można stwierdzić, że substancje ekstrahowane przez aceton i alkohol zostały niejako utrwalone. Przy ekstrakcji trwającej dłużej niż dwie godziny czas ekstrakcji nie wpływa już niemal zupełnie na aktywność preparatu. Aktywność ta zanika bardzo powoli; ekstrakt jest czynny (zabija połowę osobników przy działaniu przynajmniej przez godzinę) jeszcze po upływie 63 godzin pozostawania na powietrzu (rys. 3 i 4). Natomiast ekstrahowana miazga jest znacznie mniej aktywna niż nieekstrahowana; po upływie 1 godziny pozostawania jej na powietrzu siła działania wynosi tylko 0,5, gdy natomiast miazga nieekstrahowana po godzinie działa jeszcze z siłą = 3,5. Prawdopodobnie fitoncydy, nawet przy krótkotrwałej ekstrakcji, zostają w dużym stopniu wypłukane przez aceton lub alkohol.

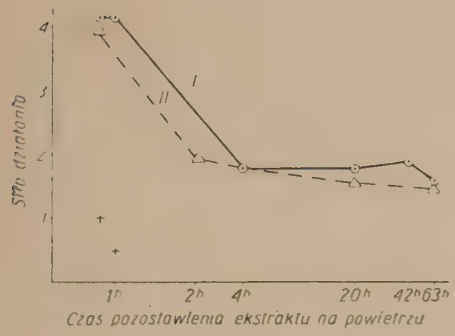
Substancje pozostające po wyparowaniu ekstraktu acetonowego są rozpuszczalne w wodzie i odznaczają się dużą aktywnością (rys. 4 i 5).

Ekstrakcja jest tym wydajniejsza im dłużej trwa (rys. 5, krzywe I i II).

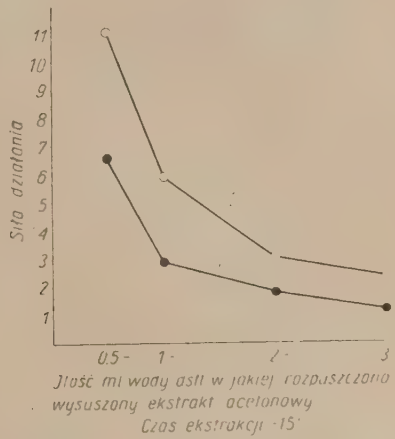
Miazga ekstrahowana acetonem lub alkoholem powoduje u pierwotniaków zmiany takie jak i świeża miazga, natomiast ekstrakt acetonowy daje obraz odmienny: brak pęcherzy, słabiej zaznaczone pęcznienie komórek.

Można zatem przypuszczać, że aceton (i alkohol): 1-o, ekstrahował tylko pewne frakcje fitoncydów (inny obraz zmian u pierwotniaków), 2-o, utrwalał fitoncydy. Stabilizacja fitoncydów pod wpływem acetonu i alkoholu jest zupełnie wyraźna. Prawdopodobnie aceton albo unie-

czynnia enzymy tkankowe, powodujące przemianę fitoncydów i ich inaktywację lub też, będąc dobrym rozpuszczalnikiem fitoncydów, izoluje je od działania enzymów.



Rys. 3.



Rys. 4.

Rys. 3. — Trwałość ekstraktu acetonowego (krzywa I) i alkoholowego (krzywa II)

Устойчивость ацетонового (I кривая) и спиртного (II кривая) экстрактов

Замечание. Время экстракции — 15 мин.

The stability of acetone-(curve I) and ethanol-(curve II) extracts.

Uwaga: Czas ekstrakcji — 15 minut.

Rys. 4. — Aktywność fitoncydów w wysuszonym ekstrakcie acetonowym w zależności od rozcieńczenia i czasu suszenia. Krzywa I — ekstrakt suszony przez 2 godziny, krzywa II — ekstrakt suszony przez 48 godzin.

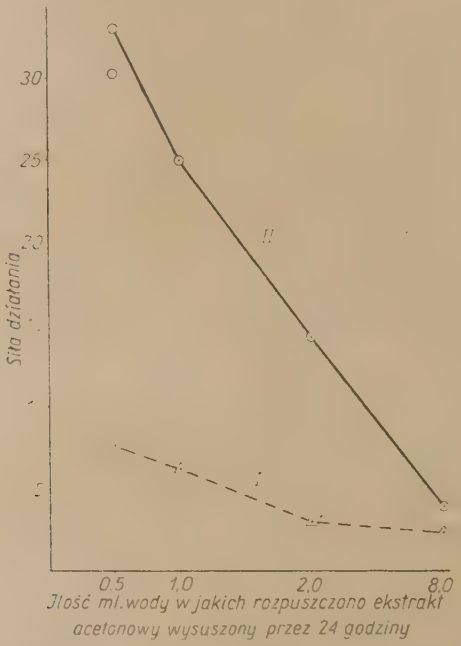
Активность фитонцидов в высушенном ацетоновом экстракте в зависимости от разбавления и времени высушивания. I кривая экстракт высушиванный в течении 2 часов, II кривая — экстракт сушенный в течении 48 часов

The effect of the time of drying and the dilution on the activity of A. c.-phytoncides in dried acetone-extract. Curve I — extract dried 2 hours, curve II — extract dried 48 hours.

Próby ekstrahowania fitoncydów przy pomocy płynu fizjologicznego, 0.1 n NaOH i 0.1 n HCl wykazały, że roztwory te działają prawie tak samo, jak woda destylowana (nie zmienia się ani aktywność, ani obraz zmian morfologicznych u pierwotniaków). Wydaje się, iż aktywność fitoncydów nie zależy prawie od wahań w stężeniu jonów wodorowych.

Działanie środków utleniających. Wykazano, że nadmanganian potasu w stężeniu 0.1 n unieczynnia w znacznym stopniu fitoncydy. Pod wpływem piętnastominutowego działania 0.5 ml 0,1 n $KMnO_4$ aktywność 1 g miazgi cebulowej spada do 4.5 (aktywność nor-

malnej miazgi wynosi w tych warunkach 8.0). Po zadziałaniu 0,5 ml 0,75 n $KMnO_4$ aktywność miazgi obniża się do 1,3. Podobnie aktywność ekstraktu acetonowego, suszonego przez 24 godziny, maleje pod wpływem 1 ml 0,1 n $KMnO_4$, spadając z 2,0 do 0,8. Miazga, na którą działano nadmanganianem potasu, wywołuje u pierwotniaków zmiany nietypowe — tylko słabe pęcznienie komórek.



Rys. 5. — Wpływ czasu ekstrahowania acetonem na aktywność fitoncydów. Krzywa I — czas ekstrakcji 15 minut, krzywa II — czas ekstrakcji 2 godziny.

Влияние продолжительности экстрагирования ацетоном на активность фитонцидов. I кривая — время экстракции 15 минут, II кривая — время экстракции 2 часа

The effect of the time of extraction on the activity of A. c.-phytoncides in acetone — extract. Curve I — 15 minutes extraction, curve II — 2 hours extraction.

O tym, że istotną rolę odgrywają w tym przypadku utleniające własności nadmanganianu świadczą wstępne doświadczenia, w których udało się przy pomocy kwaśnego siarczynu sodowego częściowo reaktywować osłabione przy pomocy nadmanganianu fitoncydy.

Wyniki otrzymane w niniejszej pracy wskazują, że fitoncydy cebuli są substancjami dobrze rozpuszczalnymi w wodzie, alkoholu i acetonie, słabiej w parafinie. Ich aktywność nie zależy od stężenia jonów wodorowych. W roztartej tkance roślinnej ulegają szybkiej inaktywacji pod wpływem jakichś enzymów, prawdopodobnie wskutek utleniania. Przemawia za tym wrażliwość fitoncydów na działanie środków utleniających.

Można zatem przypuścić, że substancje czynne w cebuli nie są identyczne z allicyną, powstającą na drodze enzymatycznego rozkładu z nierozpuszczalnej w alkoholu i acetonie oraz nieczynnej antybiotycznie alliiny, znalezionej w czosnku (Stoll i Seebeck, 1947). Przemawia za tym zarówno rozpuszczalność czynnej substancji cebuli w alkoholu i acetonie, jak i jej znaczna trwałość w tych roztworach.

Niewykluczone jest jednak, że mechanizm działania tych związków jest podobny i polega, być może, na wiązaniu grup sulfhydrylowych enzymów, jak to wykazał Szymona dla fitoncydów czosnku (1952).

Przypuszczalnie fitoncydy cebuli są mieszaniną paru substancji, o czym świadczy inny obraz zmian morfologicznych u pierwotniaków, powodowany przez ekstrakty acetonowe, przez fitoncydy częściowo unieczynnione pod wpływem utleniania oraz przez świeżą miazgę. Różnice te nie zależą od siły działania.

Autorzy składają podziękowanie prof. dr R. Towarnickiemu za zezwolenie na korzystanie z urządzeń Zakładu Zoologii Ogólnej i za cenne rady i uwagi dotyczące badań.

Б. Ожеховска, Б. Гузовска и Вл. Куницки-Гольдфингер

ФИТОНЦИДЫ ЛУКА *ALLIUM CEPA* L. ч. I.

Резюме

Химическая структура и механизм действия бактериоцидных и протистоцидных субстанций, имеющихся в соке лука, пока еще не известны.

Этим телом, по мнению автора, не является ни н—пропыльтиоль, ни выделенный из сока чеснока аллиин. Цель настоящих исследований—выяснить эти проблемы.

Мерой протистоцидной активности фитонцидов лука авторами приняты условные единицы (стократная обратная величина времени, выраженного в минутах, в котором гибнет 50% особей *Paramaecium aurelia*).

Авторы показали, что в первой фазе действия изменения, вызванные фитонцидами, обратимы (табл. 1).

Протистоцидные свойства фитонцидов зависят от времени хранения и степени разведения луковичной мезги.

Луковичные фитонциды экстрагируются водой, жидким парафином, ацетоном и этанолом. Характер реакции не влияет на их активность. Субстанции, экстрагирова-

нные ацетоном или спиртом, летучи и растворимы в воде. Устойчивость этих экстрактов гораздо больше устойчивости луковичной мезги (рис. 2,3,4, и 5).

Авторами установлено, что фитонциды лука чувствительны на окисление. Неактивные фитонциды посредством окисления $KMnO_4$, могут быть реактивированы восстановлением при помощи сернисто-кислого натрия.

Неодинаковая картина изменений, вызываемых у *Paramaecium* луковичной мезгой перед и после инактивации при помощи $KMnO_4$ и летучими субстанциями отпаренного ацетонового экстракта указывают, что фитонциды лука не являются однородным телом.

B. Guzowska, B. Orzechowska and *Wł. Kunicki-Goldfinger*

THE PHYTONCIDES OF *ALLIUM CEPA* L. p. I.

Summary

The chemical nature and the mechanism of action of antibacterial and protistocidal substances in the juice of onion are still unknown. They seem to be not identical with n-propylthiol or with the isolated from garlic-juice alliin.

These researches were undertaken with the aim to elucidate some of these problems.

The protistocidal activity of A. c.-phytoncides was measured in arbitral units (the hundredfold reciprocal of the time in minutes, in which 50% of individuals of *Paramaecium aurelia* were killed).

It was shown that during the first phase of action the changes induced in *Paramaecium* were reversible (Table I).

The protistocidal effect of A. c.-phytoncides depended upon the time of preserving and upon the dilution of the onion-pulp (Fig. 1).

The A. c.-phytoncides could be extracted with water, paraffin-oil, acetone and ethanol. They were unaffected by hydrogen-ion concentration.

The substances extracted with acetone or ethanol were soluble in water and were volatile. The stability of these extracts was much greater than of the untreated pulp (Fig. 2, 3, 4 and 5).

It was found that A. c.-phytoncides were oxygen-labile. When inactivated by oxidation with potassium permanganate they could be re-activated by reduction with sodium hydrosulphite.

The various changes induced in *P. aurelia* with phytoncides from onion-pulp before and after inactivation by $KMnO_4$, and with volatile substances from evaporated acetone-extracts indicated that A. c.-phytoncides are not uniform.

LITERATURA

1. Bailey J. H. i Cavalito C. J. Antibiotics Ann. Rev. Microbiol., 1948. 2:143. 2. Pratt I. i Dufrenoy J. Antibiotics. Lippincott. New York. 1951. 3. Stoll A. i Seebeck E.: Über Alliin, die genuine Muttersubstanz des Knoblauchols. Experientia. 1947. 3:114. 4. Szymona M.: Wpływ fitoncydów *Alium sativum* na wzrost i oddychanie niektórych grzybów chorobotwórczych. Acta Microbiol. Polon., 1952. 1:5; 5. Tokin B. P.: Fitoncydy. Wyd. Ak. Nauk ZSRR. Moskwa. 1951.

H. Bylicka, B. Jarosz, I. Nowicka i Wł. Kunicki-Goldfinger

SUBSTANCJE ANTYBIOTYCZNE POROSTÓW. CZ. I.

Z Zakładu Mikrobiologii Ogólnej i z Zakładu Systematyki
i Geografii Roślin UMCS w Lublinie

Wpłynęło dn. 5.II.1952 r.

Wyciągi z porostów są stosowane w medycynie ludowej od bardzo dawna przy wielu schorzeniach zakaźnych. Wykrycie antybiotyków, wytwarzanych przez grzyby i bakterie, zwróciło uwagę badaczy na mało dotychczas poznaną pod tym względem grupę porostów.

Obecnie poświęcono temu zagadnieniu szereg prac (Burkholder i Evans, Mc Veigh i Thornton, 1944, Barry, O'Rourke i Twomey 1947, Barry 1946, Stoll, Renz i Brack 1947, Stoll, Brack i Renz 1947, Bustinza 1951), dotyczących albo surowych wyciągów z porostów lub też kilku wyosobnionych i bliżej zbadanych kwasów porostowych, przede wszystkim kwasu usninowego, physodowego i protolichesterowego.

Substancje otrzymane z porostów lub z wyosobnionych z porostów symbiotycznych grzybów prawdopodobnie mogą w przyszłości znaleźć zastosowanie zarówno w medycynie jako środki chemoterapeutyczne, jak i w przemyśle konserwowym i spożywczym jako środki konserwujące.

Z tego względu podjęto badania mające na celu określenie działania antybiotycznego wyciągów z pospolitych gatunków porostów oraz zbadanie zależności własności antybiotycznych od zawartości kwasów porostowych.

BADANIA WŁASNE

Wyciągi sporządzano z 41 próbek (33 gatunków) porostów z kolekcji Zakładu Systematyki i Geografii Roślin UMCS (tabl. I). We wstępnych badaniach 0.25 g roztartej plechy porostów ekstrahowano w ciągu 24 godzin następującymi rozpuszczalnikami w ilości po 4 ml: wprost wodą destylowaną o temperaturze pokojowej oraz

po uprzednim przetrzymywaniu ich w temperaturze 100° i 120° przez 30 minut, buforem fosforanowym o pH 7,4, 0,1 n HCl i 0,1 n NaOH. Wyciągi z HCl i NaOH zobojętniano przed badaniem.

Własności antybiotyczne porostów badano na: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* oraz w stosunku do części próbek na saprofitycznym prątku kwasoodpornym (*Mycobacterium sp.*). Zahamowanie wzrostu *St. aureus*, *E. coli* i *B. subtilis* badano metodą cylinderkową, stosując płytki z normalnym agarem odżywczym o pH = 7,0. Wyniki notowano po 24 i 48 godzinach inkubacji w 37°. Hamowanie wzrostu prątków kwasoodpornych badano w płynnej pożywce bulionowej stosując tylko jedno rozcieńczenie (1:1).

Kwasy porostowe oznaczano jakościowo wg mikrochemicznej metody Asahiny (1936) i Lettau (1934). W 20 gatunkach oznaczano kwas usninowy, w 19 kwas salacynowy, w 3 — większą liczbę różnych kwasów.

WYNIKI I DYSKUSJA

Wyciągi wodne, bez względu na temperaturę ekstrakcji, oraz wyciągi alkaliczne (w 0,1 n NaOH) okazały się zupełnie nieaktywne. Natomiast czynne antybiotycznie były wyciągi buforowe i kwaśne (w 0,1 n HCl).

Wyniki zebrano w tabl. I, ilustrującej spektrum antybiotyczne badanych wyciągów oraz występowanie w porostach kwasów porostowych. Jak widać, kwas usninowy znaleziono we wszystkich badanych w tym kierunku porostach. Zawartość jego, oszacowana w przybliżeniu na podstawie ilości typowych kryształów znalezionych w próbach mikrochemicznych, waha się jednak bardzo silnie, nie tylko wśród różnych rodzajów i gatunków, ale nawet w obrębie tego samego gatunku (np. *Usnea longissima*, *Usnea hirta*). Kwas salacynowy stwierdzono tylko w 10 na 19 badanych porostów. Jak wykazano na przykładzie *Parmelia physodes*, *Parmelia furfuracea* i *Evernia prunastri*, jeden gatunek porostu zawiera wiele kwasów porostowych.

Spektrum antybiotyczne. Na 41 przebadanych próbek tylko wyciągi z sześciu (*Usnea hirta*, *U. dasypoga*, *U. sorediifera*, *U. glauca*, *Evernia prunastri* i *Xantoria parietina*) nie oddziaływały na żaden z drobnoustrojów wzorcowych. Największa liczba wyciągów działała na *B. subtilis* (18 z rodzaju *Usnea* oraz — prócz *Cladonia silvestris* i 1 próbki *Parmelia furfuracea* — wszystkie czynne porosty). Tylko 8 wyciągów działało hamująco jednocześnie na wszystkie trzy badane bakterie.

Hamowanie było na ogół dość słabe; strefa zahamowania zwykle wahała się od 1 do 3 mm, tylko wyjątkowo przekraczała 4—5 mm.

Zwraca uwagę fakt, że wyciągi buforowe zarówno z *Usnea*, jak i z innych rodzajów, były częściej aktywne przeciw bakteriom gramujemnym (16 wyciągów buforowych działało na *E. coli*, 18 — na *B. subtilis*, a tylko 13 — na *St. aureus*). Odwrotnie, wyciągi kwaśne działały przede

wszystkim na drobnoustroje gramdodatnie (30 — na *B. subtilis*, 13 — na *St. aureus*, a jedynie 4 — na *E. coli*). Częstokroć również wyciąg buforowy z danego porostu był czynny, gdy natomiast kwaśny z tego samego porostu nie oddziaływał na wzrost bakterii zupełnie. Częściej jeszcze zdarzała się sytuacja odwrotna. Inaczej mówiąc, spektra antybiotyczne obu rodzajów wyciągów są inne. Mimo iż spektrum działania antybiotycznego wyciągów kwaśnych było węższe (aktywne przeważnie tylko przeciw drobnoustrojom gramdodatnim), siła ich działania była zazwyczaj większa: najszersze strefy zahamowania otrzymywano z wyciągami kwaśnymi.

Zależność własności antybiotycznych od gatunku porostu. Siła i zasięg działania antybakteryjnego porostów są niezależne od gatunku porostu. Tak więc spośród czterech próbek *Usnea longissima* każda miała inny zasięg działania. To samo odnosi się do 3 próbek *Usnea hirta*. Z drugiej strony różne gatunki mogą się zachowywać niemal identycznie, np. *Usnea dasypoga typ.*, *Usnea similis* i *Usnea fulvoreagens*, *Parmelia physodes* i *Parmelia furfuracea*.

Własności antybiotyczne mogą być jednak zależne nie tyle od gatunku, co od stanowiska naturalnego i warunków rozwoju porostu. Istotną rolę pod tym względem mogą odgrywać takie czynniki, jak nasłonecznienie, wilgotność, średnia temperatura, rodzaj podłoża itd. Niestety ilość próbek przebadanych zarówno w obecnej pracy, jak i w dawniejszych pracach Burkholdera i współpracowników (1944) lub Stolla i współpracowników (1947) jest zbyt mała, by można było na niej oprzeć analizę tego zagadnienia.

Zależność własności antybiotycznych od występowania w danym poroście określonego kwasu porostowego.

Z uwagi na znaczenie, jakie przypisuje wielu badaczy kwasowi usninowemu, oraz na próby zastosowania tej substancji w lecznictwie, starano się zbadać związek pomiędzy występowaniem tego kwasu a własnościami antybiotycznymi wyciągów. Dotychczasowe wyniki wykazały jednak, że podobnej korelacji nie ma. Porosty zawierające duże ilości kwasu usninowego (np. *Usnea hirta* z Biłgoraja, *U. sorediifera*, *U. glauca*) w ogóle nie hamowały wzrostu badanych bakterii. Natomiast porosty zawierające bardzo małe ilości tego kwasu, (jak np. *Usnea dasypoga*, *U. similis*, jedna próbka *U. longissima*, *Parmelia physodes* i *P. furfuracea*) należały do najsilniej działających antybiotycznie próbek. Ta rozbieżność pomiędzy zawartością kwasu usninowego i działaniem antybiotycznym była szczególnie wyraźna w przypadku wyciągów buforo-

Tab

L. p.	Nazwa porostu	Znaleziony kwas porostowy
1	*Usnea dasypoga* (Ach.) Röhl.	usninowy +
2	„ *florida* (L.) Wigg.	„ +++
3	„ *laricina* Vain.	„ ++
4	„ *ceratina* (Ach.)	„ +
5	„ *longissima* Ach. (Czarnohora)	„ ++
6	„ „ „ „	„ ++
7	„ „ „ „	„ ++
8	„ „ „ „	„ +
9	„ *faginea* Mot.	„ +++
10	„ *dasypoga typ.* (Ach.) Röhl.	„ +
11	„ *comosa* (Ach.) Röhl.	„ ++
12	„ „ *subsp. similis* Mot.	„ +
13	„ *scrobiculata* Mot.	„ ++
14	„ *sorediifera* Mot.	„ ++
15	„ *glabrata* (Ach.) Vain.	„ +++
16	„ *glabressens* (Nyl.) Vain.	„ +
17	„ *intexta* Stirt.	„ +
18	„ *hirta* (L.) Wigg. em. Mot.	„ +++
19	„ „	„ +++
20	„ „	„ +++
21	„ *fulvoreagens* (Räs.) Mot.	„ ++
22	„ *glauca* Mot.	„ ++
23	*Parmelia coperata* L.	salacynowy . boninowy +
24	„ *acetabulum*	salacynowy — +
25	„ *saxatilis* L.	salacynowy + +
26	„ „ „	„ +
27	„ *conspersa* Ehrh.	„ ++
28	„ *sulcata* Tayl.	„ +++ boninowy +
29	„ *furfuracea* L.	salacynowy .
30	„ *physodes* L.	„
30	„ „	„ ++
31	*Cladonia rangiferina* L.	„ .
32	„ *uncialis* L.	„ .
33	„ *silvatica* L.	„ .
34	*Lobaria pulmonaria* L. (Tatry)	„ +
35	„ „ „ (Białow.)	„ +
36	*Cetraria islandica* L.	„ ++
37	*Physcia pulverulenta* Schreb.	„ .
38	*Evernia prunastri* L.	„ +
39	„ „	„ .
40	*Xantoria parietina*	„ ?
41		

Uwagi:

poz 1—22: wykonano próby jedynie na kwas usninowy; poz. 23—37: wykonano próby na kwas salacynowy i boninowy. Ponadto dla poz. 28, 29 i 37 wykonano próby na 10 kwasow porostowych z następującymi wynikami:

poz. 28 — kwas usninowy +, physodowy +++, atranorynowy +, macrophylinowy +++, imbricarowy ++, brak: gyrophorowy, fumarprotocetrarowy, eritrynowy, evernowy.

poz 29 — kwas usninowy . , physodowy + , atranorynowy , macrophylinowy , fumarprotocetrarowy + +, imbricarowy , brak: gyrophorowy, eritrynowy, evernowy.

lica I

Własności antybiotyczne					
Esch. coli		*Staph. aureus*		*Bac. subtilis*	
buf.	HCl	buf.	HCl	buf.	HCl
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	3	2
1	—	2	—	—	—
—	—	—	3	—	3
2	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	1
2	—	—	—	1	1
—	3	2	—	1	2
—	10	—	—	—	1
2	—	2	1	1	1
1	—	2	—	—	—
1	—	1	1	1	1
3	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	1
2	—	—	—	—	3
—	—	—	1	—	4
—	—	—	—	—	—
—	—	—	3	—	3
—	—	2	—	—	1
2	—	1	2	2	1
—	—	—	—	—	—
—	1	5	—	1	2
—	—	3	2	2	—
—	—	6	2	2	1
—	—	6	2	1	1
—	—	—	—	2	1
—	—	—	1	1	1
—	—	—	—	—	—
4	—	—	—	3	3
2	1	—	—	2	2
—	—	—	—	3	1
—	—	—	—	2	2
1	1	—	1	—	—
1	—	2	—	3	3
4	—	3	—	3	2
—	—	—	—	—	2
—	—	—	3	3	2
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	1	2
—	—	—	—	—	—

poz. 37 — kwas usninowy ++, atranorynowy +, macrophylowy ++, gyrophorowy ++, lumarprotocetrarowy —, erytrynowy —, evernowy —, brak: physodowego i imbricarowego.

W rubryce: kwasy porostowe — — — oznacza dużą ilość kwasu, — małą ilość kwasu, ... bardzo małą ilość kwasu, — brak kwasu.

W rubryce: Własności antybiotyczne — cyfry oznaczają szerokość strefy zahamowania w mm; znak „—" wzrost normalny.

wych, mniej rażąco uwidaczniała się w próbach z wyciągami kwaśnymi Nie stwierdzono również żadnej korelacji między zawartością kwasu salacynowego i aktywnością antybiotyczną.

Działanie antybiotyczne wyciągów buforowych i kwaśnych związane jest prawdopodobnie z niejednakowym składem tych ekstraktów, przy czym w obu przypadkach substancjami czynnymi są przypuszczalnie inne związki niż kwas usninowy, salacynowy lub któryś z innych identyfikowanych kwasów porostowych. Za takim wnioskiem przemawia też ogólnie znana, bardzo mała rozpuszczalność kwasów porostowych w stosowanych rozpuszczalnikach.

Badane wyciągi tylko w nielicznych przypadkach hamowały wzrost *Mycobacterium sp.* (tabl. II), przy czym aktywniejsze były wyciągi kwaśne (np. *Parmelia coperata* i *Parmelia sulcata*).

Tablica II

Działanie antybiotyczne wyciągów porostowych na *Mycobacterium sp.*

Антибиотическое действие лишайниковых экстрактов на *Mycobacterium sp.*

The effect of crude lichens extracts on the growth of saprophytic *Mycobacterium sp.*

L. p.	Nazwa porostu	Rodzaj wyciągu	Stopień zahamowania wzrostu
1	*Usnea ceratina*	buforowy	—
		kwaśny	+
2	*Usnea longissima*,	buforowy	+
		kwaśny	+
3	*Usnea longissima*₂	buforowy	+
		kwaśny	+
4	*Usnea comosa*	buforowy	+
		kwaśny	+
5	*Parmelia coperata*	kwaśny	++
6	*Parmelia sulcata*	kwaśny	++

++ : zupełne zahamowanie wzrostu, + : częściowe zahamowanie wzrostu, — : wzrost normalny.

Wyciągi z pozostałych badanych porostów nie działały zupełnie na wzrost *Mycobacterium sp.* w warunkach doświadczenia.

Wyniki obecnych badań trudno porównać z wynikami dawniejszych prac, poświęconych temu zagadnieniu (Burkholder i współpracownicy 1944, Stoll i współpracownicy 1947), przede wszystkim ze względu na inne warunki ekstracji (inny stosunek ilościowy rozpuszczalnika do masy plechy, inne rozpuszczalniki — np. Stoll stosował dla ekstracji mieszaninę roztworu glukozy i 0,1 n NaOH w tempera-

turze 100°) oraz z uwagi na posługiwanie się innymi drobnoustrojami wzorcowymi. Niemniej we wszystkich badaniach wykazano własności antybakteryjne u większości porostów. Zdaje się jednak, że różnorodność czynnych antybiotycznie substancji jest w porostach o wiele większa niżby to wynikało z dawniejszych prac na ten temat.

Streszczenie. Przebadano aktywność buforowych i kwaśnych wyciągów z 41 próbek (33 gatunków) porostów. Czynnymi w stosunku do jednego przynajmniej z badanych drobnoustrojów okazały się wyciągi z 33 próbek. Wyciągi buforowe hamowały wzrost głównie baktetrii gramujemnych, wyciągi kwaśne — głównie bakterii gramdodatnich. Wzrost saprofitycznego prątka kwasoodpornego był całkowicie zahamowany tylko przez wyciągi z dwóch porostów. Autorzy przypuszczają, że substancjami czynnymi w badanych wyciągach są związki inne niż stwierdzony w badanych porostach kwas usninowy i salacynowy.

Autorzy wyrażają wdzięczność prof dr J. Motyce, Kierownikowi Zakładu Systematyki i Geografii Roślin UMCS za okazaną pomoc i zainteresowanie pracą, bez których przeprowadzenie badań byłoby niemożliwe.

Г. Былицко, Б. Ярош, И. Новицка и Вл. Куницки-Гольдфингер

АНТИБИОТИКИ ИЗ ЛИШАЙНИКОВ ч. I

Резюме

Помимо относительно многочисленных исследований над лишайниками, являющимися источником антибиотических субстанций, все еще не известно, какие виды способны синтетизировать бактериоцидные тела и какова природа этих тел.

Целью настоящей работы является выяснить некоторые из этих вопросов.

Экстракты в сыром виде из 41 проб (33 видов) лишайников были подвергнуты исследованиям по чашечному методу относительно их бактериоцидного воздействия на *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* и сапрофитную кислотоупорную бактерию (табл I и II). Экстракты в сыром виде, приготовленные при помощи дестилированной воды при различных температурах (20°, 100° и 120°) и децинормального едкого натрия, не проявляли никакой активности. Продел антибиотического действия сырых экстрактов, приготовленных фосфатным буфором при pH 7.4 и децинормальной сольной кислотой представляют табл. I и II.

Все за исключением 6 экстрактов оказывали действие по крайней мере на один из тест-микробов. Экстракты с HCl оказались более активными по отношению к грамположительным и кислотоупорным бактериям. Развитие *E. coli* чаще задерживалось буфорными, чем другими экстрактами.

Авторами установлено, что бактериоцидная активность сырых экстрактов не зависит от вида лишайника. Отдельные образцы лишайников одного и того же вида могут в значительной степени отличаться в этом отношении друг от друга (например *Usnea longissima* или *U. hirta*). На антибиотическую активность экстрактов не влияет также количество „usnic" и „salacin" кислот в лишайниках, оцененная на основании микрохимических анализов. Очень возможно, что упомянутые кислоты не являются единственными активными фракциями в исследуемых экстрактах.

H. Bylicka, B. Jarosz, I. Nowicka and Wł. Kunicki-Goldfinger

ANTIBIOTIC SUBSTANCES FROM LICHENS. p. I.

Summary

Despite the considerable amount of researches made on the lichens as sources of antibiotics, it is still unknown which species are able to biosynthesize antibacterial substances and what is the nature of these substances.

It was the aim of this work to elucidate some of these problems.

Crude extracts from 41 samples (33 species) have been examined by cylinder-plate method on their antibacterial activity against *Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis* and a saprophytic acid-fast organism (Table I and II). Crude extracts prepared with destilled water at various temperatures (20 · 100° and 120°) or with 0,1 n NaOH were quite inactive. The antibiotic spectra of crude extracts made with phosphate buffer at pH 7,4 and with 0,1 n HCl are shown in tables I and II. Extracts from all but 6 specimens were active at least against one of the microorganisms tested.

The HCl-extracts were more active against gram-positive and acid-fast bacteria; *E. coli* was inhibited more often by phosphate-buffer extracts.

It was shown that antibacterial activity of crude extracts does not depend on the species of tested lichens. The various samples of the same species could vary greatly in this respect (e. g. *Usnea longissima* or *Usnea hirta*). The activity was also not influenced by the amount of usnic or salacin acids, as estimated by microchemical methods in lichens. It is probable that usnic or salacin acids were not the only active principles in these extracts

LITERATURA

1. Asahina Y.: Microchemischer Nachweis der Flechtenstoffe J. of Japan. Botany 1936. 12:516, 859; 1937, 13:41; 1938, 14:247; 322, 653. 2. Barry V. C., O'Rourke L. i Twomey D.: Antitubercular activity of diphenyl ethers and related compounds. Nature, 1947, **160**:800. 3. Burkholder P. P., Evans A. W., Mc Veigh I. i Thornton H. K.: Antibiotic activity of lichens. Bull. Torrey Botan. Club., 1944. 4. Bustinza F.: Antibacterial substances from lichens. Endavour., 1951· **10**:95. 5. Lettau G.: Nachweis und Verhalten einiger Flechtensäuren. Berlin, 1934. 6. Stoll A., Brack A. i Renz J.: Die antibakterielle Wirkung der Usninsäure auf Mykobacterien und andere Mikroorganismen Experientia, 1947, 3:115. 7. Stoll A., Renz J. i Brack A.: Antibiotika aus Flechten. Experientia, 1947, 3:111.

Acta Microbiologica Polonica, Vol. 1, No 3

J. Duda i Fr. Pędziwilk

WPŁYW PREPARATU 2.4 D I DWUNITROKREZOLU NA MIKROFLORĘ GLEB*

Z Pracowni Mikrobiologicznej Zakładu Chemii Rolnej U.P. w Poznaniu

Wpłynęło dn. 14.II.1952 r.

W związku z aktualną w produkcji roślinnej sprawą stosowania preparatów chemicznych dla celów regulowania procesów rozwojowych roślin, zwalczania czynników chorobotwórczych oraz selektywnego niszczenia chwastów powstała konieczność wyjaśnienia, czy preparaty te użyte w stężeniach potrzebnych dla uzyskania zamierzonego efektu nie wywierają wpływu na mikroflorę gleb.

Ze środków chwastobójczych wprowadzone zostały do masowego użytku dwunitro-orto-krezol i kwas dwuchloro-fenoksy-octowy (2,4 *D*). Preparat 2,4 *D* jest przedmiotem szczególnego zainteresowania ze względu na skutki jakie wywołuje w rozwoju roślin wyższych, w zależności od stężenia i okresu, w którym bywa stosowany (Tumanow 1949). Wykorzystanie tego preparatu jako środka grzybobójczego lub bakteriobójczego było już przedmiotem badań wielu autorów (Stephenson i Mitchell 1945, Wei Ling 1948, Michaelson, Schaal i Fults 1948, Culler i Witman 1949).

Wyniki tych badań wykazały toksyczne działanie tego preparatu na grzyby i bakterie, jednak tylko przy większych stężeniach, szkodliwych również dla roślin wyższych. Uniemożliwia to wykorzystanie preparatu w celu selektywnego niszczenia grzybów lub bakterii pasożytujących na roślinach wyższych.

Przeprowadzono m. in. badania nad wpływem 2,4 D na *Rhizobium leguminosarum* Fr. Fults i Payne (1947) stwierdzili, że preparat ten powoduje zmiany morfologiczne i zaburzenia w cyklu roz-

* Praca wykonana na zlecenie Centrali Handlowej Przemysłu Chemicznego, Inspektorat Poradnictwa dla Spraw Chemicznych Środków do Tępienia Szkodników.

wojowym tych bakterii. Wykazano dodatni wpływ (Straszewska, 1950) 2,4 *D* na tworzenie się i rozwój tkanki nowotworowej wywołanej przez *Phytomonas tumefaciens*. Należy jednak przypuszczać, że drobnoustroje symbiotyczne i chorobotwórcze mogą reagować inaczej niż drobnoustroje bytujące samodzielnie. W przypadku bakterii symbiotycznych i chorobotwórczych omawiany czynnik chemiczny może działać pośrednio poprzez wrażliwszy organizm gospodarza

Celem stwierdzenia oddziaływania herbicydów na mikroflorę glebową wystarczyłoby w zasadzie przeprowadzić w doświadczeniu polowym analizę mikrobiologiczną podłoża glebowego i wykazać, w jakim stopniu i w jakim kierunku zachodzą zmiany w zespołach mikroflory. Stwierdzenie powyższego nie jest jednak sprawą prostą ze względu na trudności związane z oznaczeniem stężeń herbicydów, które by wyraźnie oddziaływały na mikroflorę gleby. Ilość herbicydu efektywnie dostającego się do gleby i jego stężenie w glebie jest zmienne i zależne od zwartości masy roślin opryskiwanych. Ponadto działanie jego jest uwarunkowane wielu właściwościami gleby (nawilgocenie, własności chemiczne, fizyczne i in.). Trudne jest także oznaczenie szybkości jego unieczynnienia w glebie. Harley (1941) stwierdził, że 2,4 D, którym opryskano rośliny, pozostawał na nich czynny jeszcze po kilkudziesięciu dniach. Jednak ten sam preparat, wprowadzony do gleby przestaje być czynny znacznie szybciej. Stąd też wyniki analizy mikrobiologicznej podłoża glebowego, na które podziałano herbicydem, możemy uznać za miarodajne tylko w zakresie ściśle określonych warunków doświadczalnych. Dla całkowitego wyjaśnienia wpływu herbicydów na mikroflorę gleby konieczne są badania laboratoryjne, prowadzone w dokładnie określonych warunkach, przy czym należy uwzględnić zmiany morfologiczne i fizjologiczne w badanych hodowlach drobnoustrojów.

BADANIA WŁASNE. PLAN PRACY I METODYKA

W celu stwierdzenia oddziaływania herbicydów na mikroflorę gleby w pracy niniejszej wykonano dwa rodzaje doświadczeń: a) laboratoryjne i b) polowe.

a. W doświadczeniach laboratoryjnych badano wpływ herbicydu, dodawanego do podłoża w różnych stężeniach, na kilka gatunków drobnoustrojów glebowych w czystych hodowlach. Użyto tutaj soli sodowej kwasu dwuchloro-fenoksy-octowego (2, 4 D) i soli sodowej dwunitro-orto-krezolu dostarczonych przez Centralę Handlową Przemysłu Chemicznego.

Doświadczenia prowadzono na hodowlach: *Azotobacter chroococcum* — szczep nr 15, wyosobniony w Dziale Mikrobiologii I.U.N.G. w Puławach (hodowla surowa, zakażona towarzyszącą pałeczką), *Bacillus subtilis*, *Bacillus mycoides* (oba gatunki

w czystych hodowlach pochodzących z Działu Mikrobiologii I.U.N.G. w Puławach) oraz *Aspergillus niger*, *Mucor sp.* i *Actinomyces sp.* Trzy ostatnie organizmy wyosobniono z gleby inspektowej w Pracowni Mikrobiologicznej Zakładu Chemii Rolnej U.P.

Azotobaktera hodowano na pożywce płynnej, której skład podano w doświadczeniu 1. Hodowlę azotobaktera prowadzono w trzech równoległych powtórzeniach w temperaturze 28° przez 6 dni, po czym oznaczono ilościowo azot ogólny w każdej kolbie metodą Kjeldahla. Analizy przeprowadzono w dwóch powtórzeniach.

Hodowlę kropidlaka prowadzono na pożywce podanej w doświadczeniu 2 w 11 powtórzeniach dla każdej kombinacji. Hodowlę w trzech powtórzeniach dla każdej kombinacji prowadzono przez 10 dni i po jej ukończeniu oznaczano suchą masę grzybni. Grzybnię wyjmowano, przemywano kilkakrotnie na sączku wodą destylowaną do zaniku reakcji kwaśnej przesączu, a następnie wysuszano w 80° aż do uzyskania stałej wagi. Z pozostałych 8 równoległych powtórzeń każdej kombinacji, analizowano w odstępach 2-dniowych po dwa powtórzenia na suchą masę grzybni, na zawartość cukru w przesączu oraz na całkowitą kwasowość. Kwasowość oznaczano przez miareczkowanie przesączu 0,1 n NaOH, a cukier oznaczano ilościowo metodą Bertranda.

Hodowlę *Bacillus subtilis*, *Bacillus mycoides*, *Actinomyces sp.* i *Mucor sp.* prowadzono na pożywce peptonowej zestalonej agarem o następującym składzie: 5 g peptonu, 1 g glukozy, 1 g K_2HPO_4, 0,3 g $MgSO_4$, 10 g agaru, 1 l wody wodociągowej. Do pożywek dodawano herbicydy w ilościach odpowiadających uwzględnionym kombinacjom (tabl. II). Czas trwania hodowli podano w opisie doświadczenia 3.

b. W doświadczeniach polowych opryskiwano poletka obu herbicydami w stężeniach używanych do tępienia chwastów. Następnie w różnych odstępach czasu analizowano podłoże glebowe na ogólną ilość bakterii i grzybów. W tym celu pobierano po trzy próbki gleby z każdego poletka w ilości ca 10 g z głębokości 5 cm i 15 cm. Równoległe próbki z każdej głębokości mieszano dokładnie na jałowych parownicach porcelanowych. W próbkach oznaczano ilość wody. Z wymieszanych próbek gleby odważano ilość odpowiadającą 1 g suchej masy gleby i przenoszono do butelek z zawartością 100 ml jałowej wody. Po dokładnym wymieszaniu na trzęsawce elektrycznej sporządzano rozcieńczenia gleby w stosunku 1:10000, 1:100000 i 1:1000000. Rozcieńczeniami tymi w ilości 1 ml szczepiono przygotowaną upłynnioną pożywkę agarową o składzie: 1 g glukozy, 1 g peptonu, 1 g K_2HPO_4, 0,3 g NaCl, 0,3 g $MgSO_4$, 14 g agaru, 1 l wody wodociągowej. Rozcieńczenia 1:10000 wysiewano dla badania ilości grzybów, po uprzednim zakwaszeniu pożywki do pH-4,5. Rozcieńczeń 1:100000 i 1:1000000 używano do oznaczania ilości bakterii na pożywkach o pH 6,8. Dla każdej kombinacji zaszczepiano 6 płytek Petriego. Płytki trzymano w temperaturze 28°. Bakterie na płytkach liczono po 48, a grzyby po 96 godzinach hodowli.

Nadto analizowano mikroflorę w próbkach gleby (po 200 g), opryskiwanej znacznie wyższymi stężeniami herbicydów aniżeli w doświadczeniu polowym i przetrzymywanej w warunkach laboratoryjnych. W doświadczeniach tych oznaczano ogólną ilość bakterii w stanie wegetatywnym, ogólną ilość spor oraz ilość grzybów. Stosowano pożywki i rozcieńczenia analogiczne jak w doświadczeniu poprzednim. Liczbę spor bakteryjnych oznaczano przez ogrzewanie rozcieńczeń 1:1000 i 1:10000 do 85° w ciągu 20 minut. Obu rozcieńczeniami szczepiono upłynnioną pożywkę agarową stosując 6 powtórzeń.

OPIS DOŚWIADCZEŃ

A) Wpływ herbicydów na hodowle drobnoustrojów glebowych

Doświadczenie 1. Wpływ 2,4 D i dwunitro-krezolu na siłę wiązania wolnego azotu przez azotobaktera

Doświadczenie przeprowadzono w płynnej pożywce rozlanej po 50 ml do erlenmayerek ze szkła jenajskiego o pojemności 300 ml. Skład pożywki: 2% glukozy, 0,1% K_2HPO_4, 0,05% $MgSO_4$, 0,5% $CaCO_3$, ślady żelaza [jako $Fe_2(SO_4)_3$] i molibdenu (jako Na_2MoO_4), woda podwójnie przekroplona. Każdą kolbę szczepiono 1 oczkiem platynowym trzydniowej hodowli. Kombinacje doświadczalne podane są w tabl. I. Liczba powtórzeń równoległych — 3. Kombinacje różnią się ilością herbicydu dodanego do pożywek poszczególnych serii. W hodowlach azotobaktera z dodatkiem 2,4 D zastosowano równocześnie serie z wyłączeniem katalizatorów mineralnych ($Fe^{\cdots}$ i $Mo^{\cdots}$). Miało to na celu stwierdzenie, czy w podłożu pozbawionym tych katalizatorów, a więc dającym bardzo słaby wzrost (Krzemieniewski, Kovats 1936. Duda 1950), nie uwidoczni się wyraźniej wpływ substancji chwastobójczych.

Po 6 dniach oznaczono w hodowlach azot ogólny metodą Kjeldahla. Wyniki analiz przedstawia tabl. I.

Tablica I

Wpływ 2,4 D i dwunitrokrezolu na siłę wiązania wolnego azotu przez azotobaktera

Влияние 2,4-Д и динитрокрезола на связывание азота азотобактером.

The influence of 2.4 D and of dinitrocresol on the Nitrogen fixation power of *Azotobacter*

Nr serii	Ilość herbicydu na 1 ml pożywki	Średnia ilość związanego N_2 w 50 ml pożywki, w mg	
		pożywka pełna	pożywka bez $Fe^{\cdots}$ i $Mo^{\cdots}$
1	0 (kontrolna)	16,24	3,08
2	0,01 mg 2,4 D	14,60	3,64
3	0,04 mg „	15,54	3,99
4	0,2 mg „	14,84	3,29
5	1,0 mg „	9,31	2,03
6	0,01 mg dwunitrokrezolu	15,80	—
7	0,04 mg „	12,74	—
8	0,2 mg „	11,27	—
9	1,0 mg „	0,0	—

Wyniki tych analiz wskazują, że 2.4 D jedynie przy dawce bardzo wysokiej, bo 1 mg ml pożywki (seria 5), zmniejszył siłę wiązania wolnego azotu. Silniejszym środkiem hamującym okazał się dwunitrokrezol, który przy tym samym stężeniu całkowicie wstrzymał rozwój azotobaktera.

Obserwacje hodowli w ciągu trwania doświadczenia wykazały, że dodatek badanych herbicydów w stężeniu mniejszym niż 1 mg ml nie wpłynął na zmianę wyglądu kożuszka zarówno w hodowlach zawierających Fe··· i Mo··, jak i w hodowlach bez tych związków.

Obserwacje mikroskopowe wykazały większą ruchliwość komórek w młodej 2- i 3-dniowej hodowli na pożywkach z dodatkiem 0.1 i 0,02% herbicydów oraz tendencję do tworzenia większych zespołów komórkowych w postaci łańcuszków.

Doświadczenie 2. Wpływ 2,4 D i dwunitrokrezolu na rozwój grzyba — Aspergillus niger

Doświadczenie przeprowadzono w kolbach erlenmayerowskich ze szkła jenajskiego o pojemności 300 ml. Liczba powtórzeń w każdej kombinacji — 3. Ilość pożywki w kolbce — 50 ml. Skład pożywki: 5% sacharozy, 0,3% NH_4NO_3, 0,1% $MgSO_4$, 0,3% KH_2PO_4, woda wodociągowa. Oba herbicydy w poszczególnych seriach dodawano w takich samych ilościach, jak w doświadczeniu 1 (1,0, 0,2, 0,04, 0,01 mg na 1 ml pożywki). Posiewu dokonywano z 5-dniowej hodowli grzyba z pożywki agarowej. Hodowlę prowadzono przez 11 dni w temperaturze 29°. Po zakończeniu doświadczenia oznaczano po kilkakrotnym odmyciu wodą destylowaną suchą masę grzybni.

Wyniki doświadczenia były następujące: sucha masa grzybni w seriach z dodatkiem 2,4 D w ilościach od 1 mg do 0.01 mg na ml pożywki nie wykazała istotnych różnic w porównaniu z masą grzybni serii kontrolnej. Stwierdzono tylko nieznaczne i przejściowe zwolnienie rozwoju grzyba w obecności 1.0 mg i 0.2 mg 2.4 D na 1 ml. Również zarodnikowanie w tych seriach było nieco opóźnione. Natomiast w seriach z dodatkiem dwunitrokrezolu w ilości 1 mg i 0,2 mg ml zarodniki zupełnie nie wykiełkowały; w obecności 0.04 mg wprawdzie wykiełkowały, jednak rozwój grzyba po wytworzeniu bardzo wątłej grzybni został zupełnie zahamowany. W serii z dodatkiem 0.01 mg dwunitrokrezolu na ml pożywki rozwój był już zupełnie normalny.

Równocześnie przeprowadzono doświadczenie równoległe, w którym co dwa dni oznaczano przyrosty suchej masy, stopień wyczerpania cukru oraz całkowitą kwasowość podłoża. Przykładowo przytaczamy wyniki serii kontrolnej i serii z dodatkiem 0.2 mg 2.4 D na ml pożywki.

1. seria kontrolna	Ciężar suchej masy grzybni mg	Ubytek cukru w %	Produkcja kwasów (liczba ml 0,1 n NaOH)
po 2 dniach	58.4	12	4,9
„ 4 „	184,5	46	18,2
„ 6 „	290,0	65	32,0
„ 8 „	442,0	86	34,0
2. seria z dodatkiem 0,2 mg 2,4 D ml			
po 2 dniach	23,4	10	6,2
„ 4 „	148,4	45	14,0
„ 6 „	252,4	82	19,6
„ 8 „	370,0	100	9,0

Wyniki w seriach z dodatkiem 2,4 D w ilości 1 mg, 0.04 mg i 0.01 mg na ml pożywki były podobne.

Stwierdzono więc, że pod wpływem 2,4 D następuje znacznie większe zużycie cukru na jednostkę przyrostu masy grzybni, a słabsze zakwaszenie podłoża niż w kontroli. Wynikałoby z tego, że dodatek 2.4 D w ilościach od 1 mg do 0.04 mg na ml pożywki może wzmagać procesy oddechowe kropidlaka.

Doświadczenie 3. Wpływ 2,4 D i dwunitrokrezolu na wzrost Bac. mycoides, Bac. subtilis, Actinomyces sp. i Mucor sp.

Doświadczenie powyższe przeprowadzono na płytkach Petriego z pożywką peptonową. Jednodniowe hodowle *Bac. mycoides* i *Bac. subtilis* szczepiono rysą na powierzchnię płytek. Analogicznie szczepiono płytki zawiesiną zarodników *Mucor sp.* i konidiami *Actinomyces sp.* W tabl. II podane są kombinacje doświadczalne. Liczba powtórzeń równoległych — 6. Obserwacje nad rozwojem *Bac. mycoides* i *Bac. subtilis* przeprowadzono po 24, 48 i 96 godzinach hodowli w 28°, nad *Actinomyces sp.* i *Mucor sp.* — po 48 i 96 godzinach. Wyniki przedstawiono orientacyjnie według skali czterostopniowej.

W doświadczeniu tym, podobnie jak w poprzednich, wyraźnie wystąpiło znacznie silniejsze działanie dwunitrokrezolu niż 2,4 D. Z czterech wziętych do doświadczenia gatunków drobnoustrojów najmniej wrażliwym na działanie wysokich dawek obu herbicydów okazał się *Actinomyces sp.* Oba gatunki bakterii reagowały jednakowo. Największą wrażliwość wykazał użyty w doświadczeniu szczep *Mucor sp.*, szczególnie względem dwunitrokrezolu.

Tablica II

Wpływ 2,4 D i dwunitrokrezolu na wzrost *Bac. subtilis, Bac. mycoides, Actinomyces sp.* i *Mucor sp.*

Влияние 2,4 D и динитрокрезола на рост *Bac. subtilis, Bac. mycoides, Actinomyces sp.* и *Mucor sp.*

The influence of 2,4 D and dinitrocresol on the growth of *Bac. subtilis, Bac. mycoides, Actinomyces sp.* and *Mucor sp.*

Nr serii	Ilość herbicydu na 1 ml pożywki mg	Wzrost hodowli: po 24 godz. *Bac. subtilis*	po 24 godz. *Bac. mycoides*	po 24 godz. *Actinomyces sp.*	po 24 godz. *Mucor sp.*	po 48 godzinach *Bac. subtilis*	po 48 godzinach *Bac. mycoides*	po 48 godzinach *Actinomyces sp.*	po 48 godzinach *Mucor sp.*	po 96 godzinach *Bac. subtilis*	po 96 godzinach *Bac. mycoides*	po 96 godzinach *Actinomyces sp.*	po 96 godzinach *Mucor sp.*
1	0 (kontrolna)	++	++	—	—	+++	++	+++	++	+++	++	+++	++
2	0.04 2,4 D	++	++	—	—	+	++	+++	+	+++	+	+++	++
3	0.2 „ „	+	+	—	—		+	+		+	+	+++	+
4	1.0 „ „	+	+	—	—	+	+	++	+	+	+	+++	+
5	0,01 dwunitrokrezolu	++	++	—	—	+	+	+	+	+++	+++	+++	+++
6	0.04 „ „	0	0	—	—		+	+++	0	+	+	+++	0
7	0,2 „ „	0	0	—	—	0	0	++	0	0	0	++	0

Objaśnienie znaków: 0 — brak wzrostu; + — wzrost słaby; ++ — wzrost średni; +++ — wzrost silny; — nie badano

B) Wpływ 2,4 D i dwunitrokrezolu na ogólny stan mikroflory gleby w doświadczeniu poletkowym i laboratoryjnym

Przeprowadzono dwa doświadczenia.

Doświadczenie pierwsze założono w sposób następujący: przygotowano mikropoletka o powierzchni 1 m²; gleba poletek była piaszczysto-gliniasta o pH 6,8. Liczba powtórzeń — 3.

Kombinacje doświadczalne: Seria I. — kontrolna: poletka tej serii opryskiwano czystą wodą, w ilości równej ilościom roztworów herbicydów używanych w następnych seriach. Serie II—V: poletka opryskano dwukrotnie w odstępie 24 godz. roztworami herbicydów w ilości po 0.5 litra każdorazowo. W sumie dano po 1 l na 1 m². Seria II: 2,4 D w stężeniu 0.1%. Seria III: roztwór 2,4 D w stężeniu 0.2%. Seria IV: roztwór dwunitrokrezolu w stężeniu 0.2%. Seria V: 0.5% roztwór dwunitrokrezolu.

Stężenia powyższe odpowiadają stężeniom stosowanym w doświadczeniach nad niszczeniem chwastów.

Po upływie 10, 24 i 38 dni od drugiego opryskiwania przeprowadzono ilościową analizę mikroflory glebowej przy pomocy metody płytkowej. Zbadano próbki gleby

pobranej z każdego poletka z głębokości 5 i 15 cm. Oznaczano w nich łącznie ilość bakterii i promieniowców na płytkach z pożywką o pH 6,5 i oddzielnie ilości grzybów na płytkach o pH 4,5.

Analizy te nie wykazały między glebami z poszczególnych kombinacji żadnych istotnych różnic pod względem ilości drobnoustrojów. Nie wystąpiło tu nawet ujemne działanie dwunitrokrezolu, znalezione w czystych hodowlach drobnoustrojów.

Stwierdzono natomiast dość znaczne wahania ilości drobnoustrojów w zależności od daty analizy oraz od głębokości warstwy gleby. Wahania te jednak nie wskazywały na żadną prawidłowość. Grały tu raczej rolę zmienne warunki klimatyczne (w okresie trwania doświadczenia panowała susza z kilkoma ulewnymi deszczami).

Poniżej przytaczamy średnie ilości bakterii w tysiącach na 1 g gleby, znalezione po upływie 10 i 24 dni działania herbicydów na glebę:

	10 dni	24 dni
1. na glebie kontrolnej	3.600	3.060
2. + 2,4 D mniejsza dawka	4.550	3.860
3. „ „ wyższa „	4.700	3.010
4. + dwunitrokrezol mała dawka	5.425	2.925
5. „ „ wyższa „	2.600	2.255

Oba herbicydy użyte w powyższych stężeniach niszczyły roślinność wyższą. W doświadczeniu naszym nie opryskiwano roślin, ale samą glebę w celu uzyskania wyraźniejszego działania na mikroflorę. Na poletkach kontrolnych chwasty rozwijały się od razu, natomiast na poletkach opryskiwanych 0,1 lub 0,2%-owym roztworem 2.4 D oraz 0,2% i 0.5% dwunitrokrezolem chwasty zupełnie nie kiełkowały. Rzadki porost chwastów zjawił się na tych poletkach dopiero w szóstym tygodniu po zabiegu.

Wobec stwierdzenia, że użyte stężenia herbicydów nie działają na mikroflorę w doświadczeniu poletkowym, przeprowadzono drugie doświadczenie z glebą, ale w bardziej określonych warunkach laboratoryjnych. Mianowicie do płytek Petriego o średnicy 15 cm dawano po 200 g gleby ogrodowej (o zawartości 24.5% wody). Następnie mieszano glebę z 40 ml roztworu jednego lub drugiego herbicydu w niżej podanych stężeniach.

Kombinacje były tu następujące: 1) kontrolna, 2) 1 mg 2,4 D g gleby, 3) 0.2 mg 2,4 D/g gleby, 4) 1 mg dwunitrokrezolu/g gleby, 5) 0,2 mg dwunitrokrezolu g gleby, 6) 0,04 mg dwunitrokrezolu g gleby. Zastosowano więc stężenia herbicydów wielokrotnie wyższe od użytych w doświadczeniu poletkowym. Jeśli nawet przyjmiemy, że herbicydy przenikają do 15 cm w głąb, to przy użyciu 1 litra 0,2% roztworu 2,4 D na 1 m^2 — przypadnie na 1 g gleby w doświadczeniu poletkowym tylko 0,015 mg 2,4 D. Próbki gleby z dodanymi herbicydami przetrzymywano w temperaturze 28°. Analizy na ogólną ilość bakterii, ich spor oraz na ogólną ilość grzybów przeprowadzono metodą płytkową po 1, 2, 8 i 20 dniach.

Wyniki doświadczenia były następujące: zmniejszenie się ogólnej ilości bakterii stwierdzono jedynie po 24 godzinach średnio o 1 3 w stosunku do serii kontrolnej. Przy dłuższej hodowli nie wykryto żadnych istotnych różnic w ogólnej ilości bakterii. Po 10 dniach podniósł się jednak % komórek nieczynnych (spor) w stosunku do ogólnej ilości bakterii mniej więcej dwukrotnie. Różnice te jednak zatarły się po 20 dniach.

Grzyby nie zareagowały na herbicydy w sposób dla nas uchwytny.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Celem niniejszych badań była próba wyjaśnienia, czy przez stosowanie herbicydów do niszczenia chwastów nie wpływa się ujemnie na mikroflorę gleby. Na powyższe pytanie starano się uzyskać odpowiedź, przeprowadzając 3 doświadczenia nad wpływem soli sodowej 2,4 D i takiej samej soli dwunitrokrezolu na czyste hodowle pospolitych w glebie bakterii: azotobaktera, *Bac. subtilis*, *Bac. mycoides*, szczepu promieniowca glebowego i dwóch pospolitych rodzajów grzybów: kropidlaka i mukora.

Wykonano też doświadczenia z samą glebą w warunkach laboratoryjnych i polowych, oznaczając wpływ omawianych herbicydów na ogólną ilość bakterii w postaci czynnej i w postaci spor, oraz ogólną ilość grzybów. Herbicydy stosowano w kilku stężeniach. W doświadczeniu poletkowym użyto stężeń takich, jakie stosuje się do zwalczania chwastów. Przyjmując głębokość przenikania herbicydu na 15 cm, w doświadczeniu tym stosowano na 1 g gleby 0,0075 mg lub 0,015 mg 2,4 D oraz 0,015 mg lub 0,0375 mg dwunitrokrezolu. W doświadczeniu laboratoryjnym ilość wprowadzonego herbicydu do gleby była wielokrotnie większa, bo wynosiła 1 mg lub 0,2 mg na 1 g gleby.

Posługując się opisaną metodą nie stwierdzono, by herbicydy w ilości i stężeniach używanych do niszczenia chwastów miały jakikolwiek wpływ na mikroflorę gleby. O tym, że stężenia stosowane są obojętne dla mikroflory gleby świadczy doświadczenie, w którym do próbek gleb badanych w warunkach laboratoryjnych dodano ilości herbicydów wielokrotnie (5 —10 razy) większe, sięgające 1 mg na 1 g gleby. Nawet w tym przypadku zmniejszenie ogólnej ilości bakterii, stwierdzone po 24 godzinach, trwało bardzo krótko. Jedynym stwierdzonym objawem było zwiększenie % spor w stosunku do komórek czynnych, co wskazywałoby na pewne zmniejszenie aktywności bakterii przy tak wysokich dawkach herbicydów.

O dużej wytrzymałości poszczególnych drobnoustrojów na działanie badanych herbicydów świadczą wyniki doświadczeń z czystymi ich hodowlami. „W doświadczeniach tych starano się określić najmniejsze stężenie hamujące rozwój drobnoustrojów. Doświadczenia te wyraźnie wskazują na znacznie silniejsze działanie dwunitrokrezolu niż 2,4 D. Tak więc stężenie 0,1% 2,4 D w pożywce zmniejszyło energię wiązania wolnego azotu przez azotobaktera o 45%, gdy natomiast to samo stężenie dwunitrokrezolu całkowicie zahamowało rozwój tej bakterii (tabl. I). Jeszcze wyraźniej wystąpiły te różnice w czystej hodowli *Aspergillus niger* oraz w hodowlach *Bac. subtilis*, *Bac. mycoides* i grzyba *Mucor sp.*, gdzie począwszy od stężenia 0,04% dwunitrokrezol hamuje zarodnikowanie. Jedynie szczep promieniowca odznaczał się większą wytrzymałością w stosunku do dwunitrokrezolu (tabl. II). Godne uwagi jest, że stężenie herbicydu, które na podłożu laboratoryjnym hamowało rozwój drobnoustrojów, w środowisku glebowym działania tego nie wywierało. Być może, że herbicydy w warunkach glebowych ulegają bliżej nie wyjaśnionej, szybkiej inaktywacji; są to jednak tylko nasze przypuszczenia. Okazało się ponadto, że na podłożu laboratoryjnym badane grzyby są znacznie mniej odporne niż bakterie na wyższe stężenia obu herbicydów, przy czym i w tym przypadku dwunitrokrezol działa silniej niż 2,4 D. W samej glebie jednak nie stwierdzono silniejszej wrażliwości grzybów niż bakterii.

Dalsze badania dotyczące oddziaływania herbicydów na mikroflorę gleby, zwłaszcza preparatu 2,4 D, mogą być celowe, wymagają jednak badań fizjologicznych i biochemicznych. Działanie to może bowiem wyrazić się w zmianie metabolizmu komórek w sposób charakterystyczny dla poszczególnych gatunków lub szczepów drobnoustrojów.

И. Дуда и Ф. Пендзивильк

ВЛИЯНИЕ 2,4 Д И ДИНИТРОКРЕЗОЛА НА МИКРОФЛОРУ ПОЧВЫ

Резюме

Авторами проведено три лабораторных опыта относительно влияния 2,4 Д и динитрокрезола на развитие в чистой культуре некоторых микроорганизмов (*Azotobacter*, *Bac. mycoides*, *Bac. subtilis*, *Aspergillus niger*, *Actinomyces sp.*, *Mucor sp.*) Для этой цели были использованы концентрации обоих гербицидов в количествах от 1 мг до 0,01 мг на 1 мл питательной среды. 2,4 Д вызывал сравнительно малое отрицательное действие при более высоких концентрациях (таб. I, II), при низших же концентрациях никакого действия не обнаружено. Динитрокрезол задерживал рост бактерий и грибов уже при 0,04%.

Исследуемые микроорганизмы проявляли разную чувствительность на оба гербицида.

Рост *Actinomyces sp.* (таб. II) не прекращался даже при 0,2% динитрокрезола. Особенно чувствительным оказался *Mucor sp.*

Во второй части авторами анализируется почва делянок оприскиваемых гербицидами в концентрациях и количествах, употребляемых для уничтожения сорняков, а даже и в более высоких концентрациях. Результаты анализа показали, что гербициды в выше упомянутых концентрациях (выше 1 литр 0,2%-ого и 0,1%-ого раствора 2,4 Д или 0,5% и 0,2%-ого раствора динитрокрезола на 1 квадр. м. почвы) не оказывали вредного влияния на количество микрофлоры почвы.

В лабораторных условиях авторы прибавляли к пробе почвы гербициды в концентрациях, много раз превышающих концентрации употребляемые в практике (1 мг/1 г почвы), причем тоже не обнаружили существенных изменений в количестве микрофлоры.

На основании этих опытов авторы приходят к заключению, что гербициды, применяемые в концентрациях уничтожающих сорняки, не оказывают вредного влияния на исследуемую микрофлору почвы.

J. Duda and Fr. Pędziwilk

THE EFFECT OF 2,4 D AND OF DINITROCRESOL UPON THE SOIL MICROORGANISMS

Summary

The effect of 2,4 D and of dinitrocresol on the some soil microorganisms (*Azotobacter, Bac. mycoides, Bac. subtilis, Actinomyces sp., Aspergillus niger* and *Mucor sp.*) was examined in pure cultures of these microorganisms. The viable count of bacteria and fungi was also estimated in field trials. In pure culture-experiments 0,01 — 1,0 mg of both herbicides per 1 ml of medium were used.

2,4 D even at 0,04 mg/ml concentration gave no detrimental effect, some inhibition of growth was noted only with much higher concentrations (Table I, II). On the other hand dinitrocresol in concentrations higher then 0.04 mg/ml completly inhibited the growth of some of the examined microorganisms. No effect, even with the highest concentration used, was observed in *Actinomyces sp.* The most sensitive was a *Mucor sp.* (Table II).

In the field trials 1 m² of the soil was sprinkled with 1 l of 2,4 D or dinitrocresol-sulutions in concentrations used in weed-killing practice (0,1—0,5%). The viable count of bacteria, actinomycetes and fungi was made after 12 and 20 days. The results showed that both herbicides, in used concentrations, caused no quantitative changes in soil microflora.

Soil samples were also treated in laboratory conditions with much higher concentrations of these herbicides (0.2 and 1,0 mg of 2,4 D; 0.04 and 0.2 mg of dinitrocresol per 1 g of soil).

No appreciable change in the viable count was observed in these experiments too.

It seems then that 2,4 D and dinitrocresol in concentrations used in weed-killing practice have not any marked influence on the microorganisms in the soil.

LITERATURA

1. Culler i Witman: Effect of 2,4 D upon the morphological and physiological characteristics of certain microorganisms associated with food spoilage, wg: Rev. of appl. Myc., 1949, **27**:228. 2. Duda J.: Badania nad wpływem syntetycznych kwasów huminowych na proces wiązania wolnego azotu przez azotobaktera. Prace Kom. Nauk Roln. — Leśn. P.T.P.N., Poznań, 1950, **1**,3. 3. Fults J, i Payne M.: Some effects of 2,4 D, DDT and Colorado 9 on the *Rhizobium leguminosarum* Fr. in the nodules of the common baen. Jour. Amer. Bot., 1947, **34**:245. 4. Harley C. P.: 2,4 D as a spray to reduce harvest fruit drop of apples. Hort. Sci Soc. Amer. Proc., 1941, **38**:97. 5. Krzemieniewski S. i Kovats J.: Über den Einfluss von Eisen und Molibdän auf die Stickstoffbindung durch *Azotobacter chroococcum Beij.*, Bul. de l Acad. Pol. 1936, Sc. Nat. (I), 169. 6. Michelson M, Schaal L. A. i Fults J.: Effect of 2,4 D on the certain physiological types of *Actinomyces scabies*, Soil Sci. Soc. Amer. Proc., 1948, **13**:267. 7. Stephenson M. i Mitchell: Bacteriostatic and bacteriocidal properties of 2,4 D. Science, 1945 **101**:642. 8. Straszewska M.: Action de l'acide dichlorophenoxyacetique (2,4 D) et de l'acide indolacetique sur les tumeurs dues à *Phytomonas tumefaciens*. C.R. Soc. Biol. 1950. **144**:311. 9. Tumanow W.: Substancje wzrostowe. P.I.W.R. Warszawa, 1949. 10. Wei Ling: The effect of 2,4 D on the spore germination of fungi, Bot. Bull. Acad. Sinica, 1948, 275.

A. Nowotny-Mieczyńska i M. Ruszkowska

WPŁYW AZOTU MINERALNEGO NA ROZWÓJ SZCZEPIONYCH ROŚLIN MOTYLKOWYCH

Z Działu Żywienia i Nawożenia Roślin I.U.N.G., Oddział w Puławach

Wpłynęło dn. 24.III.1952 r.

Rośliny motylkowe, według przyjętego dotychczas poglądu, reagują ujemnie na nawożenie azotem mineralnym, osłabiające rozwój symbiozy i wiązanie wolnego azotu (Fred, Baldwin, Mc Coy 1932; Wilson, 1940). Dla wytłumaczenia tego zjawiska wysuwano różne teorie. Najważniejsza z nich, teoria Mazé'go (1898), rozszerzona i uzupełniona przez Wilsona (1940), utrzymała się do dzisiaj. Według tej teorii przyczyną ujemnego działania azotu mineralnego jest wytworzenie nieodpowiedniego stosunku ilości węgla do azotu w soku roślin. Przy dużym dopływie azotu mineralnego do korzeni fotosynteza nie nadąża za pobieraniem azotu ze środowiska odżywczego. Optymalny stosunek *C:N* można jednak przywrócić przenosząc rośliny w warunki energiczniejszej fotosyntezy lub dostarczając im z zewnątrz pokarm węglowy.

Mikrobiologowie poświęcają dużo uwagi reagowaniu *Rhizobium* (w symbiozie z rośliną) na wysokie stężenia azotu mineralnego w podłożu. Przeważa pogląd, że azot mineralny działa przede wszystkim na rośliny, a nie na zakażające je bakterie. Stwierdzono minowicie, że *Rhizobium* hodowane na pożywce o dużej zawartości azotu mineralnego nie traci swej aktywności.

Natomiast przy wysokim stężeniu azotu mineralnego włośniki korzeniowe roślin motylkowych nie ulegają charakterystycznemu skręceniu i bakterie, jeżeliby nawet udało się im wniknąć do korzeni, nie znajdują tam odpowiednich dla siebie warunków rozwoju. Stąd słaba nodulacja korzeni i zmniejszona energia wiązania wolnego azotu (Thornton i Rudorf, 1936; Thornton, 1936).

Tylko nieliczni badacze uważają, że rośliny motylkowe asymilują wolny azot w środowisku jedynie wtedy, gdy brak azotu związanego. Wnioski te wysnuto na podstawie badań nad rozwojem grochu, uprawianego w obecności różnych dawek azotu amonowego i azotanowego (Virtanen 1928; Virtanen, Hausen i Karström 1933).

BADANIA WŁASNE

Dotychczas nie zostało wyjaśnione, czy dla roślin motylkowych odpowiedniejszy jest azot atmosferyczny czy też azot związany. Postanowiono przeto zbadać, jaki wpływ na nodulację korzeni wywrze nawożenie saletrą potasową różnych roślin motylkowych szczepionych *Rhizobium* i hodowanych w możliwie jednakowych warunkach. Przebadano też wpływ dokarmiania roztworem sacharozy roślin, uprawianych w takich samych warunkach, na energię wiązania azotu cząsteczkowego i wytwarzanie czerwonego barwnika w brodawkach.

Jako podstawowe nawożenie na 10 kg piasku dano: 0,35 g K_2HPO_4, 0,25 g KH_2PO_4, 0,30 g $MgSO_4$, 8 mg H_3BO_3, 0,2 mg $CuSO_4$, 2 mg $MnSO_4$; ponadto łubin i seradela otrzymały po 2 g $CaCO_3$, a soja, koniczyna, lucerna i groch po 7 g $CaCO_3$. Azot stosowano przed posiewem w postaci saletry potasowej, a dla grochu — także w postaci saletry amonowej w ilościach od 0 do 500 mg N na 10 kg piasku, zawsze w jednej dawce. Wilgotność gleby utrzymywano na poziomie 60% nasycenia całkowitej pojemności wodnej piasku.

Nasiona wszystkich badanych przez nas roślin motylkowych, zarówno otrzymujących, jak i nie otrzymujących nawożenia azotowego szczepiono hodowlami bakterii symbiotycznych, otrzymanymi z Zakładu Mikrobiologii Rolniczej I.U.N.G. Badania prowadzono w dwóch sezonach wegetacyjnych, w roku 1950 i 1951.

WYNIKI

Groch
(doświadczenie z r. 1950)

Doświadczenie z grochem (odmiana *Victoria*) przeprowadzono w dużych wazonach. Składało się ono z 5 serii, w każdej po 6 powtórzeń (tabl. I). W każdym wazonie rosły 4 rośliny. Doświadczenie, w którym azot stosowano pod postacią saletry potasowej, ukończono w okresie dojrzałości strąków, doświadczenie drugie, z saletrą amonową — w okresie kwitnienia roślin.

Rozwój roślin: do czwartego tygodnia wegetacji rośliny kontrolne rozwijały się bardzo słabo, kolor ich pędów był jasno zielony. Rośliny nawożone azotem od razu odznaczały się silnie zielonym zabarwieniem i były wyższe od roślin kontrolnych o około 20 cm. W piątym tygodniu

wegetacji wygląd roślin wszystkich serii zaczynał się wyrównywać i rozwój przebiegał do końca doświadczenia mniej więcej jednakowo. Nie stwierdzono jakichkolwiek różnic w rozwoju, bez względu na postać w jakiej podawano roślinom pokarm azotowy.

W okresie kwitnienia wyjmowano rośliny z dwóch wazonów każdej serii (doświadczenie z saletrą potasową) i obserwowano stan brodawkowania. Brodawki zbierano, płukano, oznaczano w nich suchą masę i zawartość azotu oraz wagę plonu. Znaleziono, że w miarę wzrostu dawki azotu na wazon (patrz tabl. I i rys. 1), rozwijało się coraz mniej brodawek, a zarazem wytwarzały się one coraz dalej od korzenia palowego. Zawartość hemoglobiny w tych brodawkach stopniowo się zmniejszała, tak że brodawki u roślin otrzymujących najwyższą dawkę azotu były już zupełnie bezbarwne.

Tablica I

Wpływ wzrastających dawek KNO_3 i NH_4NO_3 na plon i nodulację szczepionego grochu

Влияние разных доз KNO_3 и NH_4NO_3 на развитие инокулированного гороха и образование клубеньков

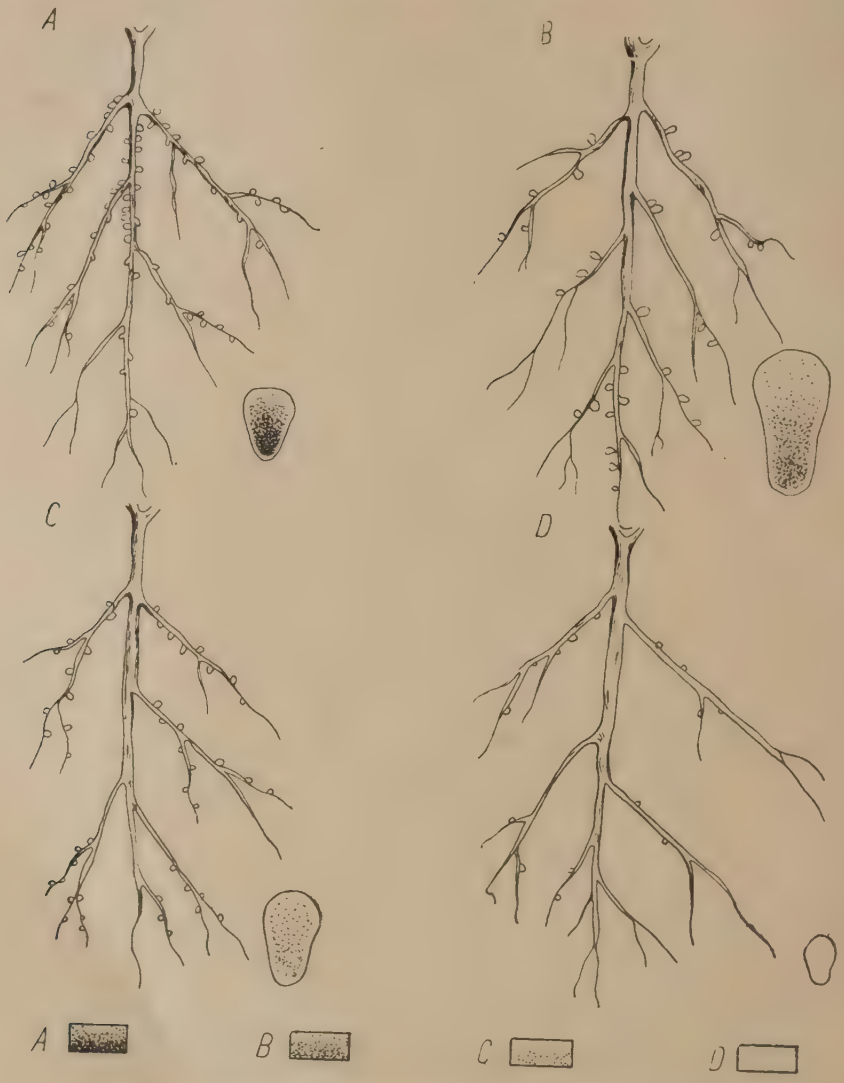
The influence of different amounts of KNO_3 and NH_4NO_3 upon the yield and nodulation of inoculated peas

L. p. serii	Ilość N na wazon *	Nawożenie KNO_3					Nawożenie NH_4NO_3	
		Sucha masa — średnio z 1 wazonu (4 rośliny)						
		Plon całych roślin	N w plonie	Brodawki korzeniowe			Plon całych roślin	N w plonie
				Plon	% N	Plon N		
	mg	g	mg	mg		mg	g	mg
1	0	24,6±1,27	534	216	8,51	18,4	16,4±1,00	516
2	25	23,5±2,40	538	170	—	—	—	—
3	50	—	—	78	—	—	19,0±0,64	548
4	250	33,4±0,57	604	—	—	—	23,1±0,39	588
5	500	29,3±2,80	628	34	6,71	2,3	20,4±0,27	584

* wazony o pojemności 10 kg piasku.

Rys. 1 ilustruje rozwój brodawek, ich ilość, wielkość i rozmieszczenie na korzeniach — (doświadczenie z KNO_3).

W tablicy I zestawiono ilości azotu w plonach dojrzałego grochu. Widzimy z niej, że pomimo słabej nodulacji korzeni w seriach z najwyższymi dawkami saletry potasowej lub amonowej, rośliny przyswoiły w przybliżeniu te same lub większe ilości azotu niż rośliny serii kontrolnej. Groch uprawiany na dwóch różnych formach azotu przyswoił



Rys. 1. — Wpływ azotu mineralnego na brodawkowanie grochu

Влияние минерального азота на образование клубеньков у гороха

Influence of mineral nitrogen on nodulation of peas

A. Bez azotu
B. 250 mg N/NO_3
C. 250 mg N/NO_3
D. 500 mg N/NO_3

Pigmentacja brodawek:

Brodawki:	A. ciemno czerwona	B. różowa	C. słabo różowa	D. bezbarwna
	drobne	b. duże	dość duże	b. drobne

mniej więcej jednakowe ilości tego składnika, jakkolwiek ogólny plon roślin w doświadczeniu z saletrą amonową był nieco niższy.

Wyniki doświadczenia z r. 1950 z grochem wykazują, że roślina ta ma zdolność selektywnego pobierania azotu mineralnego przy równoczesnym zahamowaniu procesu symbiotycznego wiązania azotu. Świadczy o tym słabsza nodulacja i zmniejszenie ilości wytwarzanego w brodawkach czerwonego barwnika, w miarę wzrostu stężenia saletry potasowej lub amonowej w podłożu. Dwie różne formy nawożenia azotowego wywołały taki sam efekt.

Seradela
(doświadczenie z r. 1950)

Seradelę uprawiano w wazonach o pojemności 1 kg czystego piasku. Podstawowe nawożenie dano takie jak dla grochu w ilościach zmniejszonych proporcjonalnie do ilości podłoża. Doświadczenie składało się z 3 serii (patrz tabl II); każda seria — z 8 powtórzeń, w każdym wazonie rosło po 10 roślin. Azot stosowano tylko w postaci saletry potasowej. Do wazonów kontrolnych dodano przed siewem małą dawkę azotu (1 mg N na wazon) dla ułatwienia roślinom początkowego rozwoju. Doświadczenie ukończono w okresie przekwitania roślin.

Zaobserwowano, że rozwój seradeli oraz brodawkowanie korzeni było we wszystkich trzech seriach mniej więcej jednakowe. Bez względu na ilość N w podłożu brodawki były liczne i żywo czerwone lub zielonoczerwone. Narośla te zbierano z korzeni, oznaczano ich suchą masę, wagę i zawartość azotu. Wyniki tego doświadczenia zebrano w tabl. II.

Tablica II

Wpływ różnych dawek KNO_3 na plon i na nodulację szczepionej seradeli

Влияние разных доз KNO_3 на развитие инокулированной сераделлы и образование клубеньков

The influence of different amounts of KNO_3 upon the yield and nodulation of inoculated serradella

L. p. serii	Ilość N na wazon*	Sucha masa średnio z 1 wazonu (10 roślin)				
		Plon całych roślin	N w plonie	Plon brodawek	N brodawek	
	mg	g	mg	mg	mg	%
1	1	5,60±0.37	129	458	37	8,11
2	5	4,94±0,30	123	400	29	7,50
3	25	4,58±0.21	122	446	37	8,40

* wazony o pojemności 1 kg piasku.

Z tablicy tej wynika, że rośliny we wszystkich trzech seriach przyswoiły mniej więcej te same ilości azotu; również plon brodawek oraz zawartość w nich azotu były we wszystkich seriach w przybliżeniu jednakowe. Celem przekonania się, czy fakt ten nie jest spowodowany tym, że rośliny nie wykorzystały azotu podanego im do podłoża pobierając ten składnik tylko z atmosfery, oznaczano ilość azotu w piasku, na którym rosły rośliny. Okazało się, że rośliny pobrały tylko minimalne ilości azotu dostarczonego im w piasku, prawdopodobnie zanim zaczęły wiązać azot symbiotycznie.

Analizy piasku przeprowadzono w mikroaparacie Kjeldahla; redukowano azotany za pomocą stopu Dewarda. Poszczególnych form azotu NH_4 i NO_3 nie oznaczano z powodu małej ilości materiału. Analizowano piasek serii kontrolnej i serii 3 (tabl. II) z 25 mg azotu na wazon. Wyniki analizy piasku podajemy poniżej:

Ślepa próba: średnio . . 0,56 mg N (ogólnego).
Seria 1. (kontrolna) . . 0,58 mg N na 1 kg piasku.
Seria 3. (25 mg N)/wazon 24,3 mg N (NH_4+NO_3) na 1 kg piasku.
„ „ „ 24,0 „ „ „
„ „ „ 22,9 „ „ „

Średnio znaleziono . . . 22,7 mg N (NH_4 + NO_3) na wazon o pojemności 1 kg piasku, zasilonego 25 mg N saletry przed siewem roślin.

Doświadczenie, które przeprowadzono w r. 1951 dało identyczne wyniki: bez względu na obecność azotanów w podłożu brodawkowanie było silne, brodawki zabarwione na czerwono. Analizy piasku zgodziły się całkowicie z wynikami analiz z r. 1950.

Z powyższych badań można wysnuć następujące wnioski: 1. ilość azotanów w podłożu nie miała widocznego wpływu na rozwój seradeli i na gromadzenie przez nią azotu, przy czym rośliny pobierały azot tylko symbiotycznie; 2. seradela wytworzyła, bez względu na ilość N w podłożu, duże, liczne brodawki zabarwione na czerwono. Dowodzi to, że seradela pobiera azot selektywnie, ale w odróżnieniu od grochu pobiera azot cząsteczkowy a nie mineralny.

Lucerna i koniczyna
(doświadczenie z r. 1950)

Wpływ azotu mineralnego na rozwój wieloletnich roślin motylkowych, głównie lucerny i koniczyny był przedmiotem szczególnie rozległych badań. Prawdopodobnie tym badaniom zawdzięczamy ogólnie przyjęte zapatrywanie o ujemnym wpływie azotu mineralnego na rozwój symbiozy u roślin motylkowych. Thornton i Nicol (1934), Hopkins, Wilson i Peterson (1938), Démolon i Dunez (1938)

stwierdzają, że azot amonowy i azotanowy wpływa szkodliwie na proces wiązania wolnego azotu, o czym świadczy złe brodawkowanie korzeni i zahamowanie ogólnego rozwoju roślin. W doświadczeniu przeprowadzonym przez nas zauważono te same objawy.

Badania te przeprowadzono w wazonach o pojemności 10 kg. Doświadczenie składało się z trzech serii (patrz tabl. III), po 6 powtórzeń w każdej serii, w każdym wazonie rosło po 10 roślin. Seria kontrolna otrzymała minimalną dawkę 10 mg N na wazon

Zaobserwowano, że obie rośliny, koniczyna i lucerna, rozwijały się podobnie w obecności wzrastających dawek saletry, a mianowicie w miarę wzrostu stężenia azotu w podłożu zakwitanie ich opóźniało się i rośliny stawały się coraz to niklejsze. Doświadczenie zakończono, gdy większość roślin zakwitła. Rośliny ścinano równo z powierzchnią piasku, korzenie wyjmowano i notowano stan nodulacji. Nie oznaczano plonów suchej masy brodawek z powodu ich bardzo małych rozmiarów. Zauważono jednak, że w seriach kontrolnych (bez azotu) brodawki były liczne i czerwone, w seriach z dawką 250 mg N na wazon było ich bardzo mało a w serii z największą dawką (500 mg N na wazon) nie było ich prawie zupełnie lub też były bezbarwne. Plony roślin i plony ich azotu podano w tabl. III. Plony te odnoszą się do pierwszego pokosu (ważonego oraz analizowanego bez korzeni).

Tablica III

Wpływ różnych dawek KNO_3 na plon i nodulację szczepionej lucerny i koniczyny

Влияние разных доз KNO_3 на развитие инокулированных люцерны и клевера и на образование у них клубеньков

The influence of different amounts of KNO_3 upon the yield and nodulation of inoculated lucerne and red clover

L. p. serii	Pierwszy pokos, bez korzeni, sucha masa — średnio z 1 wazonu				
	Ilość N na wazon*	Lucerna		Koniczyna	
		Plon roślin	Plon N	Plon roślin	Plon N
	mg	g	mg	g	mg
1	10	4,9 ± 0,40	136	13,0 ± 0,92	246
2	50	—	—	9,4 ± 0,83	203
3	250	2,8 ± 0,12	78	6,2 ± 0,61	126
4	500	2,7 ± 0,20	91	6,4 ± 0,60	128

*) wazony o pojemności 10 kg piasku

Wyniki tego doświadczenia wskazują, że lucerna i koniczyna nie mają własności selektywnego pobierania azotu, jak to obserwowano

w doświadczeniu z grochem i seradelą, i że obecność azotanów w podłożu hamuje symbiotyczne wiązanie wolnego azotu. Świadczy o tym coraz to słabsze brodawkowanie korzeni i coraz to gorszy rozwój lucerny i koniczyny przy wzrastających dawkach azotu mineralnego.

Soja
(doświadczenie z r. 1951)

Doświadczenie to przeprowadzono w wazonach o pojemności 10 kg. Składało się ono z 6 serii ze wzrastającymi dawkami saletry potasowej (patrz tabl. IV). Każda seria składała się z 6 powtórzeń, w każdym wazonie rosły po trzy rośliny.

W pierwszych trzech tygodniach wegetacji rośliny serii kontrolnej i serii z najniższą dawką azotu (25 mg N na wazon) rozwijały się słabo przy czym liście ich były jasnozielone. W miarę wzrostu stężenia saletry w podłożu rozwój roślin był coraz lepszy i zieleń coraz mocniejsza. W 5 tygodniu od chwili siewu różnica między poszczególnymi seriami zaczynała się zacierać, a wkrótce potem zaobserwowano, że rośliny serii kontrolnej i serii z najniższą dawką azotu były już bardziej zielone od roślin serii z najwyższymi dawkami azotu (250 mg i 500 mg N na wazon). W okresie kwitnienia zauważono pewną depresję rozwoju w serii z najwyższą dawką azotu. Doświadczenie zakończono, gdy większość roślin zaczęła dojrzewać. Wyniki tego doświadczenia zebrano w tabl. IV.

Jak wynika z powyższego zestawienia, dawka optymalna wynosiła 100 mg N na wazon; kolejna wyższa dawka (250 mg N na wazon) spowodowała wprawdzie bujny rozwój części wegetatywnych, ale jednocześnie wyraźnie obniżyła plon ziarna. Dawka najwyższa (500 mg N na wazon) wywołała depresję rozwoju części zielonych roślin, a w jeszcze wyższym stopniu — produkcji ziarna. Depresję widać również w nodulacji korzeni: plon suchej masy brodawek w tej serii był blisko o połowę mniejszy niż na korzeniach roślin kontrolnych; nadto brodawki były bezbarwne lub jasnoróżowe.

Doświadczenie to jest zgodne z wynikami badań Mackiewicza (1949), według którego nawożenie soi dużymi dawkami saletry (100 kg N na ha) powoduje, w warunkach polowych, silny rozwój części wegetatywnych ze szkodą dla produkcji ziarna.

Łubin żółty, słodki
(doświadczenie z r. 1951)

Doświadczenie z łubinem przeprowadzono w takich samych warunkach jak doświadczenie z soją. Wyniki tego doświadczenia podaje tabl. IV.

Jak widzimy, plon łubinu zmniejsza się w miarę wzrastania stężenia saletry w piasku, obniżka ta jest jednak znacznie mniejsza niż w wy-

Tablica IV

Wpływ wzrastających dawek KNO_3 na plon i nodulację szczepionej soi i żółtego łubinu

Влияние разных доз KNO_3 на развитие инокулированных сои и желтого люпина и на образование у них клубеньков

The influence of different amounts of KNO_3 upon the yield and nodulation of inoculated soy-beans and lupine

L. p. serii	Ilość N na wazon*	Sucha masa — średnio z 1 wazonu								
		Plon całych roślin		N w plonie	Plon ziarna		N w plonie ziarna	Brodawki		
		g	%	mg	g	%	mg	Plon g	% N	Plon N mg
		Soja (3 rośliny)								
1	0	46,9±1,60	100	1377	18,2±0,70	100	1099	2,25	3,34	77
2	25	51,1±1,81	109	1583	18,5±0,81	102	1222	—	—	—
3	100	48,9±4,17	104	1592	18,4±2,17	101	1294	2,04	—	—
4	250	50,8±2,58	108	1456	16,7±0,55	92	1051	—	—	—
5	500	36,6±1,17	78	1038	12,3±0,47	66	779	1,34	3,96	53
		Łubin żółty, siewki (3 rośliny)								
1	0	46,3±1,52	100	1025	11,4±0,71	100	715	0,73	3,10	23
2	25	44,0±1,36	95	967	10,2±0,51	89	613	—	—	—
3	100	39,7±2,51	86	864	9,3±0,81	81	569	0,76	3,08	23
4	500	36,5±1,37	79	714	7,1±0,51	62	437	0,56	3,38	19

* wazony o pojemności 10 kg piasku.

padku koniczyny i lucerny i podobnie jak u soi dotyczy w wyższym stopniu ziarna aniżeli części wegetatywnych roślin. Nodulacja korzeni i proces wiązania wolnego azotu ulegają również pewnemu zahamowaniu.

Reasumując wyniki dwuletnich badań nad różnymi roślinami motylkowymi stwierdzamy, że prawie w każdej z nich stosunki symbiotyczne kształtują się odmiennie pod wpływem nawożenia saletrą, o czym świadczy nodulacja i wysokość plonów roślin (tabl. V).

Wpływ sacharozy na nasilenie symbiozy u roślin motylkowych

Ujemny wpływ azotu mineralnego na rozwój i nodulację niektórych roślin motylkowych tłumaczy się naruszeniem równowagi między ilością węgla i azotu w ich soku. Postanowiono więc zbadać, czy wprowadzenie węglowodanów do podłoża nie wpłynie w jakiś sposób na poprawę rozwoju roślin i na ich symbiozę.

Tablica V

Wpływ azotu azotanowego na rozwój szczepionych roślin motylkowych

Влияние азота азотнокислых солей на развитие инокулированных бобовых растений

The effect of N-KNO_3 on the growth of inoculated leguminous plants

L. p	Dawki N na 10 kg piasku w g	Względny plon roślin					
		Groch	Seradela	Koniczyna	Lucerna	Soja	Łubin
1	0	100	100	100	100	100	100
2	250	135	90	47	57	108	—
3	500	119	—	49	57	78	79

Przebadano pod tym względem te same odmiany roślin, które użyto do doświadczeń z azotem mineralnym. Co trzeci dzień dodawano do wazonu o pojemności 1 kg piasku po 1 ml świeżo sporządzonego roztworu sacharozy w stężeniu stopniowo wzrastającym: 1%, 1,5%, 3% i 5%.

W sumie otrzymały rośliny uprawiane w wazonach o pojemności 1 kg piasku około 50 mg, a wazony z 10 kg piasku — około 500 mg sacharozy. Zabieg ten rozpoczęto w tym czasie, gdy rośliny tworzyły pierwszą parę liści, ukończono w okresie zawiązywania pąków kwiatowych. W przypadku koniczyny, aby wykluczyć wpływ sacharozy na mikroflorę glebową, podawano sacharozę także i na liście. W tym celu pędzlowano powierzchnię liści odpowiednimi roztworami sacharozy.

Badania z sacharozą prowadzono w takich samych warunkach (podłoże, nawożenie itd.) jak w doświadczeniach poprzednich, z tą tylko różnicą, że doświadczenie z koniczyną i lucerną wykonano w wazonach o pojemności 1 kg piasku i że serie kontrolne nie otrzymały małej bodźczej dawki azotu.

Lucerna

(doświadczenie z r. 1951)

Doświadczenie składało się z 2 serii: z azotem i bez azotu; każda seria miała 8 powtórzeń; w każdym wazonie rosło po 10 roślin.

Rośliny serii kontrolnej miały rozwój opóźniony. W okresie kwitnienia wygląd roślin serii kontrolnej był jednak wyraźnie lepszy niż wygląd roślin, które otrzymały dawkę saletry.

Po wyjęciu korzeni z piasku, co zrobiono w okresie kwitnienia roślin, stwierdzono, że brodawki roślin kontrolnych w obu grupach, z sacharozą i bez sacharozy, były czerwone. Brodawki roślin z serii zasilonej saletrą były w grupie bez sacharozy (seria 3) bezbarwne, natomiast w grupie z sacharozą (seria 4) wyraźnie zabarwione na czerwono. Brodawek nie zbierano. Wyniki badań zestawiono w tabl. VI.

Koniczyna
(doświadczenie z r. 1951)

Doświadczenie to ukończono zanim jeszcze rośliny zawiązały pąki, a to z powodu mączniaka, który zaczął opanowywać liście roślin. W doświadczeniu tym stosowano sacharozę w serii z saletrą nie tylko do piasku (seria 4), ale także na liście (seria 5).

W serii kontrolnej zaobserwowano wyraźne objawy głodu azotowego; rozwój roślin tej serii był opóźniony w porównaniu z serią nawożoną azotem. Brodawek nie zbierano, obserwowano tylko ich rozwój i zabarwienie. Wyniki doświadczenia zebrano w tabl. VI.

Tablica VI

Wpływ sacharozy na plon i na nodulację szczepionych roślin: lucerny i koniczyny

Влияние сахароза на развитие инокулированных люцерны и клевера и на образование у них клубеньков

The influence of saccharose upon the yield and nodulation of inoculated clover and lucerne

L. p. serii	Ilość N na wazon*	Dawka sacharozy	Sucha masa — średnio z 1 wazonu				Barwa brodawek	Sucha masa średnio z 1 wazonu				Barwa brodawek
			Plon całych roślin		Plon N			Plon całych roślin		Plon N		
			g	%	mg	%		g	%	mg	%	
			Koniczyna					Lucerna				
1	0	0	1,65±0,05	100	45	100	czerwone	2,92±0,05	100	82	100	czerwone
2	„	+ do piasku	0,68±0,19	41	19	44	„	2,77±0,06	94	78	95	„
3	25	0	2,77±0,27	100	66	100	bezbarwne	2,08±0,21	100	60	100	bezbarwne
4	„	+ do piasku	3,51±0,33	126	86	130	czerwone	3,34±0,07	162	95	158	czerwone
5	„	+ na liście	3,27±0,19	116	84	128	bezbarwne	—				

* wazony o pojemności 1 kg piasku.

Jak widzimy, obecność sacharozy w piasku, w seriach bez saletry, wpłynęła ujemnie na rozwój roślin, których plon zmniejszył się mniej więcej o połowę. Natomiast w seriach z saletrą — w obu grupach (seria 4 i seria 5) znajdujemy zwyżkę ogólnego plonu i plonu azotu. Obserwacje

nad brodawkowaniem wykazały, że w seriach z azotem dodawanie sacharozy do piasku (seria 4) wpływało lepiej na nodulację korzeni niż pędzlowanie sacharozą liści (seria 5). W serii 5 (sacharoza na liście) zaobserwowano ogromnie bujny rozwój systemu korzeniowego roślin.

Dla przekonania się, jak wpłynęła sacharoza na mikroflorę podłoża piaskowego, przeprowadzono po ukończeniu doświadczenia z roślinami jego analizę mikrobiologiczną (tabl. VII).

Tablica VII

Wpływ sacharozy na ilość drobnoustrojów w piasku spod szczepionej koniczyny
Влияние сахароза на количество микроорганизмов в песке (культура клевера)
The effect of saccharose on the number of microorganisms in sand with clover culture

L. p. serii	Ilość N na wazon*	Dodatek sacharozy	Ilość drobnoustrojów, w tysiącach komórek na 1 g wilgotnego piasku					
			Ogólna ilość			*Rhizobium*	*Clostridium*	Azotobakter
			Bakterii	Promieniowców	Pleśni			
1	0	+ do piasku	19500	33	28	73	2000	około 100
2	25	„ „	9800	66	22	72	1000	około 1
3	„	+ na liście	7200	62	31	81	500	mniej niż 0,001

* wazony o pojemności 1 kg piasku.

Z tablicy widzimy, że pod wpływem azotanów ogólna ilość bakterii zmniejszyła się mniej więcej o połowę; ilość azotobaktera spadła 10-krotnie, ale przy równoczesnym dodaniu do piasku sacharozy wzrosła około 100-krotnie. Natomiast ilość *Rhizobium* nie uległa zmianie ani pod wpływem sacharozy (około 50 mg na 1 kg piasku), ani azotanów (25 mg N na 1 kg piasku).

Soja i łubin
(doświadczenie z r. 1951)

W doświadczeniu z tymi roślinami stwierdzono, że dodatek sacharozy do piasku dobrze wpływa na wygląd roślin (w seriach z sacharozą rośliny były ciemnozielone), ale zwyżkę plonu roślin i silniejsze brodawkowanie korzeni spowodował dodatek pokarmu węglowego tylko w seriach z najwyższą dawką azotu 500 mg N na wazon. Dotyczy to w tym samym stopniu obu badanych roślin. Plony roślin zestawiono w tabl. VIII.

Groch i seradela
(doświadczenie z r. 1951)

Doświadczenie ukończono w okresie kwitnienie roślin; po wyjęciu roślin z piasku zbadano stan nodulacji na ich korzeniach. Obserwacje te wykazały, że dodatek sacharozy do podłoża w żadnym wypadku nie wpłynął na lepsze brodawkowanie. Brodawki korzeniowe roślin w serii bezazotowej były w obu grupach (z sacharozą lub bez niej) liczne i czerwone, w serii, która otrzymała 100 mg N na wazon — nieliczne, ale jeszcze różowe. W serii z najwyższą dawką saletry, niezależnie od dodatku sacharozy pojawiły się zaledwie ślady zupełnie bezbarwnych narośli. Wyniki tego doświadczenia podano w tablicy VIII. Jak widzimy, zmiany

Tablica VIII

Wpływ sacharozy na plon i na nodulację szczepionych roślin: soi, łubinu i grochu

Влияние сахароза на развитие инокулированных сои, люпина и гороха и на образование у них клубеньков

The influence of saccharose on the growth and nodulation of soy-beans, lupine and peas

L.p. serii	Ilość N na wazon	Dodatek sacharozy	Sucha masa — średnio z 1 wazonu*							
			Plon całych roślin		Plon N	Plon brodawki	Plon całych roślin		Plon N	Brodawki korzeniowe
	mg		g	%	mg	g	g	%	mg	
			Soja (3 rośliny)				Groch (3 rośliny)			
1	0	0	46,9±1,69	100	1377	2,27	17,8±0,74	100	334,9	czerwone, liczne
2	„	+	46,3±3,70	100	1403		15,8±1,40	88	264,3	„ „
3	100	0					21.0±1,13	100	337,4	różowe nieliczne
4	„	+					21,6±1,27	102	332,3	„ „
5	500	0	36,6±1,16	100	1030	1,34	26,7±0,75	100	371,2	b. nieliczne bezbarwne
6	„	+	43,0±2,80	117	1226	1.84	24.1±0.83	90	375,2	„ „
			Lubin (3 rośliny)							
1	0	0	46,5±1,52		1025	0,73				
2	0	+								
3	500	0	36,5±1,37	100	714	0,56				
4	„	+	42,7±1,50	117	843	0,71				

* wazony o pojemności 10 kg piasku.

w wysokości plonów roślin pod wpływem wzrastających dawek azotanów zachodziły podobnie jak w doświadczeniu z poprzedniego roku. Stwierdzono więc, że sacharoza nie miała wpływu na ogólny rozwój roślin.

W doświadczeniu z seradelą zauważono, że nodulacja (ilość i jakość brodawek) oraz plony nie uległy zmianie w obecności saletry pod wpływem zasilania roślin roztworem sacharozy.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Powyższe badania wskazują, że uogólnianie wniosków o ujemnym działaniu azotu mineralnego na rozwój i na symbiozę roślin motylkowych jest niesłuszne. Również nieuzasadnione jest twierdzenie niektórych mikrobiologów, że rośliny motylkowe tylko wtedy czerpią azot atmosferyczny, gdy brak im innego źródła azotu. Różne spostrzeżenia, poczynione nad poszczególnymi roślinami, być może uogólniano potem na całą rodzinę *Papilionaceae*. Wyniki obecnych badań, które przeprowadzono w warunkach dość jednolitych nad 6 roślinami motylkowymi, upoważniają do przypuszczenia, że prawie każda z tych roślin odznacza się innym stopniem wrażliwości i inaczej reaguje na obecność azotanów w środowisku odżywczym. Groch i seradela mają zdolność selektywnego pobierania azotu. Groch, mając do wyboru azot mineralny i atmosferyczny, pobiera azot związany, co już uprzednio stwierdziło wielu badaczy. W przypadku seradeli zauważono, że dostarczony roślinie azot azotanowy pozostał nietknięty w podłożu w ciągu całego niemal okresu wegetacyjnego. Roślina przyswajała azot wyłącznie z pomocą bakterii, przy czym obecność N mineralnego nie hamowała tej symbiozy.

Działanie azotanów wyraźnie hamujące symbiozę stwierdzono natomiast u lucerny i koniczyny, co zgodne jest z wynikami badań wielu mikrobiologów. Rośliny te rozwijały się słabo, ich brodawki były bardzo nieliczne i ledwo zabarwione lub w ogóle bezbarwne. Byłoby rzeczą interesującą sprawdzić, czy w tych warunkach rośliny pobrały azot azotanowy i czy zakłócenie równowagi biologicznej nastąpiło dopiero w samej roślinie, czy też przyczyną ujemnego działania saletry była osłabiona pod wpływem tej soli „inwazyjność" *Rhizobium*.

Soja i łubin pod względem reagowania na azotany zajmują miejsce pośrednie; obie te rośliny rozwijają się coraz słabiej w miarę zwiększania stężenia saletry w podłożu, nie w takim jednak stopniu jak lucerna i koniczyna. Jeszcze przy stężeniu 250 mg N na 10 kg piasku obserwowano dobrą nodulację korzeni (liczebność, barwa), dopiero

dawka dwukrotnie wyższa wywołała zahamowanie rozwoju roślin i nodulacji.

Widzimy, że cztery spośród sześciu zbadanych przez nas rodzajów roślin motylkowych reagują swoiście na nawożenie azotem mineralnym; groch pobiera raczej N mineralny, seradela, na odwrót, asymiluje raczej N cząsteczkowy; lucerna i koniczyna należą do tych roślin, które nie asymilują wolnego azotu w obecności azotanów.

Jakie źródło azotu bardziej odpowiada soi i łubinowi — trudno jest rozstrzygnąć; obfite brodawkowanie roślin, nawet przy dużym stężeniu azotu w podłożu, świadczyłoby raczej o tym, że przyswajają one tylko azot atmosferyczny, nawet w obecności azotanów. Nie jest jednak wykluczone, że mogą korzystać równocześnie z obu źródeł azotu. Sprawy te pozostają jeszcze do zbadania.

Z opisanych przez nas doświadczeń nad działaniem sacharozy wynika, że różne rośliny motylkowe, nawożone wzrastającymi dawkami saletry, reagowały różnie na równoczesne wprowadzenie do podłoża źródła węgla organicznego w postaci sacharozy. Groch i seradela w ogóle nie zareagowały na sacharozę w podanym stężeniu, natomiast w przypadku soi i łubinu, a zwłaszcza lucerny i koniczyny, stwierdzono przy większym stężeniu azotanów w środowisku odżywczym wyraźnie dodatnie działanie sacharozy na rozwój roślin i na ich brodawkowanie. W seriach, które nie otrzymały azotu mineralnego, zasilanie roślin sacharozą wywołało pewną depresję plonu i słabszą nodulację. Być może, przyczyną tej depresji było nadmierne rozmnożenie się azotobaktera (tabl. VII), który odbierał pokarm roślinom. Natomiast w obecności azotanów przeciwdziałających rozwojowi tych bakterii, stwierdzono dodatnie działanie sacharozy. Analiza mikrobiologiczna piasku zasilonego sacharozą nie wykazała zwiększonej ilości *Rhizobium*, mogła jednak zwiększyć się pod wpływem sacharozy jego aktywność. Tym można by tłumaczyć pewne wzmożenie działalności symbiotycznej w systemie roślina — bakterie. Nie zaobserwowano tego zjawiska w przypadku grochu i seradeli.

W badaniach nad wpływem sacharozy na rozwój szczepionych roślin motylkowych zwrócono specjalnie uwagę na pigmentację brodawek korzeniowych. Brak barwnika w koniczynie i w lucernie, uprawianych w środowisku o dużym stężeniu azotanów, a jego powstawanie równoległe ze wzmożeniem energii wiązania wolnego azotu pod wpływem równoczesnego wprowadzenia pokarmu węglowego do korzeni roślin, byłyby dowodem, że produkcja tego barwnika jest ściśle związana z aktywnością bakterii brodawkowych. Stwierdzono lepszy rozwój koniczyny na podłożu z saletrą

przy równoczesnym podawaniu sacharozy na liście, ale nie zanotowano powstawania czerwonego barwnika w brodawkach (tabl. VI). Tak więc produkcja tego pigmentu wydaje się być ściśle związana z poprawą warunków rozwojowych *Rhizobium*.

W związku z wynikami naszych badań nasuwa się szereg problemów, na przykład sposób reagowania roślin motylkowych na wzrastające stężenie azotanów w uprawie polowej, a więc w naturalnych warunkach; zdajemy sobie bowiem w pełni sprawę ze sztuczności warunków naszego doświadczenia.

ZESTAWIENIE WYNIKÓW

Groch z równą korzyścią dla swego rozwoju pobiera azot atmosferyczny jak i mineralny. Stwierdzono, że w miarę wzrostu dawki azotanów w podłożu energia wiązania wolnego azotu stopniowo maleje (tabl. I, rys. 1).

Seradela uprawiana w analogicznych warunkach pobierała tylko azot cząsteczkowy, bez względu na ilość azotu mineralnego w podłożu (tabl. II).

Koniczyna i lucerna należą do tej grupy roślin motylkowych, których rozwój jest hamowany przez nawożenie azotanami. Hamowanie to jest tym silniejsze, im wyższą jednorazową dawką azotu mineralnego karmimy badane rośliny motylkowe.

Równolegle z osłabionym rozwojem rośliny, obserwujemy coraz słabszą nodulację korzeni (tabl. III).

Soja i łubin żółty rozwijają się przy niskim stężeniu saletry (25 mg N na 10 kg piasku) równie dobrze jak w podłożu nie zawierającym azotu mineralnego; duże dawki azotu hamują zarówno ogólny rozwój roślin, jak i ich brodawkowanie (tabl. IV).

W przypadku koniczyny i lucerny dodatek sacharozy do piasku nieco osłabiał szkodliwe działanie wysokich dawek saletry (tabl. VI), przy czym dodawanie sacharozy do piasku okazało się skuteczniejsze niż stosownie jej na liście (tabl. VI).

W wypadku łubinu i soi wpływ sacharozy stosowanej równocześnie z wysoką dawką (500 mg N na 10 kg piasku) saletry był podobny jak u lucerny i koniczyny (tabl. VIII).

Seradela i groch, uprawiane w podłożu o wysokim stężeniu saletry, nie reagowały na dokarmianie sacharozą (tabl. VIII).

A. Новотны - Мечинска и М. Рушковска

ВЛИЯНИЕ МИНЕРАЛЬНОГО АЗОТА НА РАЗВИТИЕ ИНОКУЛИРОВАННЫХ БОБОВЫХ РАСТЕНИЙ

Резюме

В условиях вазонных опытов (песок) авторы занялись исследованием влияния минерального азота на развитие растений и образование клубеньков у люцерны, красного клевера, сои, желтого люпина, сераделлы и гороха. Авторами обнаружено, что азот азотнокислых солей (KNO_3) специфически влияет на развитие растений и обра-

зование у них клубеньков, а именно азот калийной селитры (в количестве 50 мг N на 1 кг песка) тормозит развитие люцерны, клевера, в меньшей степени люпина и сои, а также и образование клубеньков у тех же растений. Сераделла усваивает почти исключительно атмосферический азот даже в присутствии больших доз селитры (25 мг N на 1 кг песка), горох же при наличии обеих форм азота предпочитает азотнокислые соли (табл. I–IV).

Авторами установлено, что вредное действие селитры можно смягчить одновременной подачей сахароза. Относится это лишь к люцерне и клеверу. Сахароз не оказывает никакого влияния на развитие сераделлы и гороха и образование у них клубеньков (табл. VI и VII).

A. Nowotny-Mieczyńska and *M. Ruszkowska*

THE INFLUENCE OF MINERAL NITROGEN ON THE GROWTH OF INOCULATED LEGUMINOUS PLANTS

Summary

The growth and nodulation of inoculated peas, serradella, red clover, lucerne, soy-beans and yellow lupine (growing in sand pot experiment), under the influence of combined nitrogen, were examined. It was ascertained, that the nitrate-nitrogen affects the growth of different plants and their nodulation specifically. The growth and nodule production of lucerne and clover, and to some extent of lupine and soy-beans, are inhibited by KNO_3. In the case of serradella the fixation of free nitrogen occurs even in the presence of an excess of KNO_3. The nitrogen fixation by peas is wholly inhibited by KNO_3 (tables I, II, III, IV).

It was established, that the inhibitory effect of KNO_3-N on the growth of lucerne, clover, soy-beans and lupine can be overcomed by addition of saccharose. This substance affects both, the nodulation (and the production of the red pigment) and the power of nitrogen fixation. No effect of saccharose has been observed on the growth and nodulation of serradella and of peas (tables VI, VIII).

LITERATURA

1. Démolon A. i Dunez A.: Symbiose bactérienne et culture des Légumineues. Compt. Rend. Acad. Agr. France, 1938. **21**:199. **2.** Fred E. B., Baldwin I. L., Mc. Coy E.: Root nodule bacteria and Leguminous plants. University of Wisconsin, Madison, 1932. **3.** Hopkins E. W., Wilson P. W., Peterson W. H.: Influence of potassium nitrate on nodule formation and Nitrogen fixation by clover. Plant Physiol., 1932. **7**:597. **4.** Mackiewicz Z.: Praca niepublikowana (1949). **5.** Mazé M.: Les microbes des nodosités des Légumineuses. Ann. Inst. Pasteur, 1898. **12**:128. **6.** Thorton H. G. i Nicol H.: The effect of sodium nitrate on the growth and Nitrogen content of a Lucerne and grass mixture. Journ. of Agric. Sci. 1934, **24**:269. **7.** Thornton H. G. i Rudorf Jovce: The abnormal structure induced in nodules of lucerne by the supply of sodium nitrate to the host plant. Pr. Roy. Soc., Ser. B., 1936 **120**:240. **8.** Thornton H. G. i Nicol H.: Reduction of nodule num-

bers and growth produced by addition of sodium nitrate in sand culture. Journ. Agric. Sci., 1936. **26**:173. **9.** Virtanen A. I.: Investigations on the formation of proteins in Leguminous plants. Valion Laborat Julkaisuja, Helsinki. 1928 i wg P. W. Wilson: Biochemistry of Nitrogen Fixation. Madison, 1940. **10.** Virtanen A. I., von Hausen S. i Karström H.: Die Ausnutzung der aus den Wurzelknöllchen der Leguminosen herausdiffundierten Stickstoffverbindungen durch Nichtleguminosen. Biochem. Zt. 1933, **258**:106. **11.** Wilson P. W.: The Biochemistry of symbiotic Nitrogen fixation. The University of Wisconsin Press, Madison, 1940.

K. Kluczycki

STUDIA NAD WARTOŚCIĄ GRZYBOBÓJCZĄ NIEKTÓRYCH PRODUKTÓW ORAZ PRAKTYCZNA METODYKA JEJ BADANIA

Z Zakładu Technologii Chem. Przemysłu Rolniczego i Mikrobiologii Technicznej Politechniki Śląskiej w Gliwicach

Wpłynęło dn. 21.III.1952 r.

WSTĘP

Prawdziwy grzyb domowy *Merulius lacrymans*, oraz inne gatunki, jak *Poria vaporaria*, *Coniophora cerebella*, wyrządzają corocznie nie tylko olbrzymie szkody materialne, lecz równocześnie powodują pogorszenie się warunków mieszkalnych i zdrowotnych ludności. Skuteczne zwalczanie tych grzybów jest zatem jednym z ważniejszych zadań technicznych.

W dziedzinie zwalczania grzybów domowych na czoło wysuwają się w praktyce szczególnie trzy zagadnienia o zasadniczym znaczeniu.

Pierwszym jest problem skutecznej ochrony budynków mieszkalnych nie tylko przed wilgocią, lecz również przed przenikaniem do zdrowych budynków grzybni z ziemi, gruzu, zarażonego drewna, zarażonego sąsiedniego budynku itd. Zagadnienie to nie zostało dotychczas praktycznie rozwiązane.

Drugim ważnym problemem w dziedzinie zwalczania grzybów domowych jest sprawdzenie praktycznej wartości stosowanych środków konserwujących drewno. Środek konserwujący drewno i niszczący grzyb domowy powinien odpowiadać ściśle określonym warunkom, którym szereg preparatów w wielu punktach nie odpowiada.

Trzecim aktualnym zagadnieniem w dziedzinie powszechnego stosowania środków grzybochronnych jest wynalezienie tanich, dobrych i skutecznych środków konserwujących, które można by otrzymywać z odpadków produktów przemysłu krajowego.

Te trzy aktualne zagadnienia skłoniły autora do zbadania wartości grzybobójczej asfaltów bitumicznych, soli technicznych o-dwunitrokrezoli, oraz tzw. sulfokwasów naftowych.

Wartość grzybobójcza asfaltów nie została dostatecznie zbadana, a problem grzybobójczej odporności i stosowanych w praktyce hydroizolacji zbyt mało był dotąd doceniany. Zagadnienie to obejmuje pierwszą część pracy.

W drugiej części pracy autor ocenił krytycznie metodę konwencyjną badania wartości grzybobójczej środków impregnujących drewno i starał się przystosować ją do warunków praktycznych. Badania przeprowadzono nad technicznymi solami o-dwunitrokrezoli (preparat „Mikrosol").

Zagadnienie wartości grzybobójczej nowych produktów, łatwo dostępnych, a posiadających lepsze własności impregnacyjne, rozpatrzono na przykładzie tzw. sulfokwasów naftowych, produktów odpadkowych przemysłu naftowego. Badania te stanowią trzecią część pracy.

I. WARTOŚĆ GRZYBOBÓJCZA ASFALTOW I PAP BITUMICZNO-NAFTOWYCH

Jako materiały izolacyjne w budownictwie stosuje się produkty smołowo-terowe, otrzymywane przy suchej destylacji węgla, asfalty naturalne, oraz najczęściej asfalty bitumiczne *), pochodzenia naftowego.

Większą wartość izolacyjną mają asfalty bitumiczne, zachowujące elastyczność, przyczepność i spoistość dłużej niż produkty smołowo-terowe, które pod wpływem czynników atmosferycznych (powietrze, światło itp.), stają się nieelastyczne, kruche, łatwo łamliwe i praktycznie nieprzydatne (Heinrici-Temme, 1944, Kuźniecow, 1948).

Asfalty i inne produkty izolacyjne nie powinny z biegiem czasu ulegać procesom destrukcji, pociągającym za sobą utratę własności izolacyjnych. Obok naturalnego zjawiska tzw. starzenia się izolacji przeciwwilgociowych, któremu dość szybko ulegają produkty węglopochodne, a trudniej nieco ropopochodne, dość często obserwowano destruktywne działanie organizmów żywych na powyższe materiały.

Przede wszystkim zwrócono uwagę na papy dachowe, zawierające wkładki z materiałów celulozowo-ligninowych, jak bawełna, juta, szlif drzewny itp., najczęściej stykające się z grzybami drzewnymi na zaciekających dachach lub innych częściach konstrukcji drewnianych.

Ponieważ w praktyce stosuje się papy smołowo-terowe, oraz głównie papy bitumiczno-asfaltowe, zbadano więc przede wszystkim wpływ czynników destruktywnych na te gatunki pap.

*) Według nowszej literatury (Wagner, 1943, Michajłow, 1949) termin bitumen stosuje się dla czystej substancji bitumicznej, zaś nazwą asfalt określa się substancje bitumiczne zmieszane drogą naturalną (pochodzenie) względnie sztucznie z domieszkami mineralnymi. Ponieważ pojęcie asfalt jest szersze i w Polsce bardziej znane, zachowałem je w pracy.

Peters (1935) zbadał w warunkach laboratoryjnych, stosując metodę kolb Kollego, działanie grzybów drzewnych (w szczególności *C. cerebella*) na różne gatunki pap smołowo-terowych i bitumiczno-asfaltowych.

Badania powyższe wykazały bardzo silny rozwój grzybni i opanowanie przez nią próbek pap asfaltowo-bitumicznych już po okresie jednego miesiąca, zupełne nienaruszenie natomiast pap smołowo-terowych. Na podstawie tego Peters doszedł do wniosku, że asfalty bitumiczne nie tylko nie działają toksycznie na grzyby drzewne, lecz w pewnym stopniu mogą być pożywką dla nich.

Podobnie przeprowadzone badania Walthera (1935) wykazały, że papy bitumiczno-asfaltowe tracą dość szybko wytrzymałość mechaniczną, która obniża się w temp. 35° po okresie 22 dni do 23% wartości pierwotnej. Wytrzymałość pap smołowo-terowych pozostaje bez zmian, a nawet podnosi się w niektórych przypadkach o około 60%. Przy obserwacji powierzchniowej badanych pap stwierdzono, że papy bitumiczne już po około 5 dniach pokrywały się pleśnią, zaś po 22 dniach miały wygląd białawy. Papy terowe były w tym czasie zupełnie czyste.

Ten sam autor w innej pracy (1938) stwierdził częste uszkodzenia pap bitumicznych przez czynniki biologiczne, zwłaszcza przez korzenie roślin, co z reguły nie zdarzało się u pap smołowo-terowych.

Liese (1935) badał podobną metodą własności przeciwgrzybowe materiałów asfaltowych, specjalnie pap bitumiczno-asfaltowych. Czas badania wynosił ponad dwa miesiące. Skrawki pap bitumicznych zostały w tym czasie całkowicie obrośnięte i zniszczone przez grzybnię *C. cerebella*, skurczyły się i straciły na ciężarze i grubości około 20%, terowane papy pozostały natomiast niezmienione i czyste.

Liese nie stwierdził jednak, czy grzyb może się odżywiać ciałami bitumicznymi.

Ten sam autor wykonał bardzo interesujący eksperyment przebicia papy bitumicznej przez grzyb drzewny *) (rys. 1).

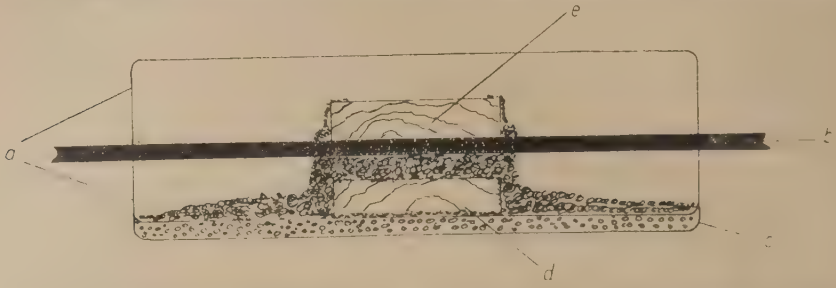
Nad kwestią toksyczności produktów naftowo-bitumicznych oraz smołowo-terowych pracowali ponadto w ostatnich latach (od r. 1930): Baier (1937), Peters, Krieg i Pflug (1937), Liese (1936), Skupieński (1934), przy czym nie stwierdzili wyraźnego toksycznego działania produktów naftowych, w przeciwieństwie do produktów smołowo-terowych zawierających związki fenolowe i inne połączenia toksyczne a silnie działających na grzyby i pleśnie.

Podobne zjawisko stwierdził ostatnio Judowicz i Jermołowa (1948), którzy wyosobnili wiele bakterii i pleśni z izolacji bitumicznych, stosowanych w bezpośrednim zetknięciu z wilgotną ziemią. W szczegółowych badaniach laboratoryjnych, stosując niestety tylko pleśnie z rodzaju *Penicillium*, przekonano się, że główne zmiany zarówno ilościowe, jak i w składzie chemicznym zachodzą w osnowie organicznej pap. W samej substancji bitumicznej zmiany są minimalne, nie świadczące o wyraźnym zaatakowaniu jej przez drobnoustroje.

Nieco więcej światła na sprawę możliwości przyswajania przez drobnoustroje węglowodorów, a w szczególności substancji bitumicznych, przynoszą ostatnie badania Robotnowej, Ułebekowej i Magnitskiej (1950) nad bakteriami denitryfikującymi. Stwierdziły one mianowicie, że bakterie te mogą zużywać jako podłoże rozwojowe substancję bitumiczną, rozwijając się jednak tylko na jej powierzchni i tworząc nalot. Stwierdzając możliwość częściowego wykorzystania

*) Demonstracja prof. J. Liesego w jego zakładzie.

przez pewne bakterie substancji bitumicznej, podkreślają one ogromne znaczenie tego zjawiska dla trwałości podziemnych izolacji przeciwwilgociowych w warunkach względnie beztlenowych, gdzie mogą one ulegać uszkodzeniu i nadniszczeniu.



Rys. 1. — Przebicie papy bitumicznej przez grzyb drzewny; grzyb przerasta wprost przez papę z klocka zagrzybionego do zdrowego. a — płytka Petriego, b — papa izolacyjna bitumiczna, c — pożywka z rozwiniętą grzybnią, d — klocek zagrzybiony, e — klocek zdrowy.

Прорастание битумного толя домовым грибом, грибница переходит через битумный толь со сгнившего бруска на здоровый. a—чашка Петри, b—битумный толь, c—сусловый агар с развитой грибницой, d—сгнивший брусок дерева, e—здоровый брусок.

Fig. 1. — Mycelium growing through the bituminous tar-paper directly from the infected wood-block into uninfected one. a — Petri dish, b — bituminous tar-paper, c — nutrient medium with mycelium, d — infected wood-block, e — uninfected wood-block.

BADANIA WŁASNE

Badania powyższe oraz własne, zebrane przy odgrzybianiu budynków, liczne obserwacje nad izolacjami i papami asfaltowymi (Kluczycki 1937) skłoniły mnie do bliższego zainteresowania się tym tematem. Stwierdzałem niejednokrotnie przenikanie grzyba przez pokrycie izolacyjne asfaltowe progów, futryn, izolacji fundamentowych itp. Obserwowałem w silnie zaatakowanym przez *M. lacrymans* obiekcie grzybnię rosnącą dość bujnie na powierzchni około 3 m² asfaltowej izolacji pionowej głębokich fundamentów. Grzyb domowy dobrze się również rozwijał i tworzył grube powłoki na tzw. smołowej izolacji drewnianych stropów piwnicznych starych budynków. Niejednokrotnie stwierdziłem w miejscach silniejszego przeniknięcia grzybni przez izolacje asfaltowe żółtawobrunatne zabarwienie plechy, co dowodziłoby wewnątrzkomórkowego odkładania ciemnych ciał bitumicznych. Bardzo często spotykałem bujny wzrost grzyba domowego na papach izolacyjnych; papa taka była wiotka, a po wyschnięciu krucha i zatracała zupełnie własności izolacyjne. Przenikanie grzyba domowego przez izola-

cje asfaltowe fundamentów stwierdzałem bardzo często. Obserwowałem również bujny rozwój jałowej plechy pleśniaków rodzaju *Verticillium* na powłoce bitumicznej słupków drewnianych podłogi wiszącej, drewno tu nie było wcale zniszczone. Obserwowane fakty dotyczyły terenu sąsiadującego z zagłębiem naftowym, gdzie do izolacji używano prawie wyłącznie produktów bitumiczno-asfaltowych.

Podobne zmiany na izolacyjnych papach bitumicznych stwierdziła praktyka budowlana ostatnich lat (np. analizy kontrolne laboratorium grzyboznawczego Instytutu Techniki Budownictwa w Warszawie).

Ponieważ żaden z poprzednich badaczy nie zajmował się specjalnie samymi asfaltami, szczególnie stosowanymi w praktyce budowlanej, postanowiłem sprawdzić grzyboodporność niektórych pap, oraz zbadać wartość ochronną niektórych używanych w praktyce izolacji smołowych i bitumiczno-asfaltowych. Przeprowadzono również próby uodpornienia przed grzybami drzewnymi używanych izolacji bitumiczno-asfaltowych oraz zbadano wartość grzybobójczą stosowanych preparatów.

Papy szczegółowo przebadane już przez wyżej wspomnianych autorów badałem tylko bardzo ogólnie potwierdzając wyniki omówione poprzednio. Wąskie paski różnych pap izolacyjnych bitumicznych, po powierzchownym ich wyjałowieniu wkładano pionowo do erlenmayerek, zawierających hodowlę *C. cerebella* i *M. lacrymans* na agarze słodowym. Po kilku tygodniach stwierdziłem wyraźne obrośnięcie pasków plechą i zwiotczenie ich od dołu. Papę silniej atakowała kultura *C. cerebella*. Ilościowych badań nie przeprowadzono.

Szczegółowo natomiast przebadano asfalty. Do badań zastosowano nieco zmodyfikowaną i dostosowaną do próbek asfaltowych metodę konwencyjną kolb Kollego dla klocków drewnianych, opisaną w referacie Liesego, Nowaka, Petersa i Rabanusa (1935). Kultury grzybów *C. cerebella* i *M. lacrymans* pochodziły z Laboratorium Mikrobiol. Techn. Politechniki Warszawskiej; jak sprawdzono potem były one tak samo, a może nawet bardziej żywotne niż kultury standartowe używane w metodzie konwencyjnej (*C. cerebella* - Liese i *M. lacrymans* - Liese). Pożywka agarowa (5% brzeczka słodowa z 3% agaru). Rozwój pierwotny kultury grzybnej trwał około 2 tygodni dla *C. cerebella* i około 2 miesięcy dla *M. lacrymans*.

Próbki asfaltów o ciężarze 3—4 g a następnie 8—9 g, nakładano po stopieniu zrazu wprost, a potem w specjalnej foremce, na płaskie szklane podstawki formatu 2,5×5 cm znaczone liczbami porządkowymi. Ciężar próbek ustalano po kilkudniowym suszeniu na powietrzu. Próbki asfaltu wyjaławiano powierzchniowo przez szybkie przeciągnięcie ich przez płomień gazowy, po czym umieszczano je w kol-

bach, w których rozwinęła się uprzednio hodowla grzyba. W każdej kolbie Kollego umieszczano po trzy próbki, tylko w jednym przypadku — po cztery, zaś w kilku (szczególnie dla *M. lacrymans*) — po dwie. W każdej kolbie umieszczano tzw. próbkę kontrolną z asfaltu łatwo atakowanego przez grzyb *). Unikano kombinacji próbek działających na siebie na odległość (lotne trucizny). Kolby z próbkami trzymano w specjalnym pokoju hodowlanym o temperaturze 20°—22° i wilgotności względnej 65%—75%. Okres badania dla różnych próbek wynosił 8—11 miesięcy, przeważnie około 10 miesięcy.

Zbadano 7 asfaltów handlowych (tabl. I), używanych w praktyce budowlanej, niewiadomego składu chemicznego i pochodzenia (najprawdopodobniej bitumicznych, pochodzenia naftowego), cztery asfalty bitumiczne pewnego pochodzenia naftowego, jeden pak smołowo-terowy pochodzenia koksowniczego oraz jedną izolację sztuczną (Abizol) — oryginalny produkt handlowy o prawdopodobnym składzie: azbest miałki, bitumen naturalny, żywice i ciężkie oleje lotne — nieznanego pochodzenia.

Próbki asfaltów umieszczone na hodowli grzyba ulegały atakowi zwykle dość szybko, w pierwszym tygodniu doświadczenia. Po 3—4 tygodniach przeważnie całkowicie pokrywała je plecha grzyba. Wszystkie bitumiczne asfalty budowlane pochodzenia naftowego zostały zaatakowane przez grzyby w mniejszym lub większym stopniu. Najłatwiej ulegały atakowi asfalty bitumiczno-naftowe miękkie (użyte dlatego przez autora jako próbki kontrolne), następnie czyste asfalty bitumiczno-naftowe twarde oraz wysokogatunkowe asfalty budowlane. Gorsze asfalty budowlane okazały się odporniejsze. Badany dla kontroli pak koksowniczy wykazał dużą odporność na działanie *C. cerebella* i prawie zupełnie nie obrastał grzybnią.

Rozwój grzybni trwał około 4—5 miesięcy. Pożywka w tym okresie nieco wysychała, po czym grzybnia stawała się bardziej zbita, lub częściowo zanikała przybierając barwę ciemną. Niekiedy (szczególnie u asfaltów miękkich) powstawały charakterystyczne, rozgałęzione spękania powłoki grzybnej. Na kilku asfaltach miękkich zaobserwowano pewnego rodzaju „wzdęcia" z równoczesnym, silnym pęknięciem próbki (rys. 2, próbka 20). Po wyjęciu próbek z kolb Kollego i delikatnym oczyszczeniu ich z plechy zaobserwowano na ich powierzchni bardzo charakterystyczny, dość głęboki, wklęsły relief plechy grzybnej w kształcie kwiatów mrozowych na szybach. Relief ten pojawiał się na asfalcie już po 2—3-miesięcznym działaniu grzybni.

Próbki ważono po kilkudniowym suszeniu ich na powietrzu. Wyniki ważeń nie odzwierciedlają jednak dostatecznie jasno stopnia zniszcze-

*) Podatność próbki kontrolnej została uprzednio sprawdzona.

nia. Na ogół nie otrzymano strat. W kilku przypadkach przy okresie badania, trwającym około trzech miesięcy, otrzymano stratę 0,5% —1,4%; w innych wypadkach przy okresie badania trwającym około 10 miesięcy — nawet przyrost wagi do 2% (możliwe są tu też trudne do usunięcia ślady zanieczyszczeń plechą grzybną).

Ponieważ w metodzie konwencyjnej dla próbek drzewnych uważa się za dowód pewnego zaatakowania przez grzyb dopiero stratę 3—5% (niejako granica błędu doświadczalnego), trudno więc z powyższych cyfr wyciągnąć wnioski.

Dokładna obserwacja próbek umożliwia jednak zainterpretowanie otrzymanych cyfr. Zasadniczo potwierdzono pogląd Liesego, według którego, wbrew przypuszczeniom Petersa, substancja bitumiczna nie jest przyswajana przez grzyb w większej ilości. Jednak bujny wzrost plechy na asfaltach bitumicznych, wyraźne tworzenie zagłębień w asfalcie przez rozgałęzienia plechy, częste zabarwianie się normalnie białej plechy np. u *M. lacrymans* na brunatno, występowanie „wzdęć" na niektórych gatunkach asfaltów (ewentualne procesy gazowe, spowodowane wniknięciem nitek grzybni w miękki asfalt) oraz małe straty wagowe, z czasem malejące do zera wskutek chłonięcia wilgoci i pewnych składników pożywki przez asfalt, świadczyłyby o możliwości wykorzystywania w odpowiednich warunkach przez grzyb pewnych ilości substancji bitumicznych.

Metoda konwencyjna w swej typowej formie nie pozwala na otrzymanie dokładniejszych wyników ilościowych. Ponieważ jednak celem badań było raczej stwierdzenie odporności powierzchniowej niektórych stosowanych w praktyce asfaltów na działanie grzybów domowych, przeto uważałem tę metodę za wystarczającą.

Dokładne wyniki badania odporności próbek w stosunku do *C. cerebella*, jako do tzw. grzyba wzorcowego, zestawiono w tablicy I.

Badania nad *M. lacrymans* przeprowadzono na kilku asfaltach bitumicznych (nr. nr. I, II i IV), otrzymując mniej więcej podobne wyniki; grzyb porastał próbki gęsto, plecha była jednak bujniejsza i wyższa, przy czym niekiedy obserwowano tworzenie się charakterystycznych, długich, cienkich, promieniście ułożonych, białych sznurów.

Wygląd próbek zbadanych ilustruje rys. 2.

Z powyższych badań wynika, że asfalty bitumiczno-naftowe nie wywierają prawie żadnego działania grzybobójczego i że grzyb domowy może się na ich powierzchni rozwijać lub nawet je przerastać. Powyższe próby wykazują ponadto, że im lepszy technicznie jest asfalt bitumiczny, tym łatwiej ulega on zaatakowaniu przez grzyb. Natomiast ba-

Tab

Własności grzybobójcze różnych izolacji
Okres badania około 10 miesięcy.

Фунгицидное действие некоторых битумических изоляций и битумно-

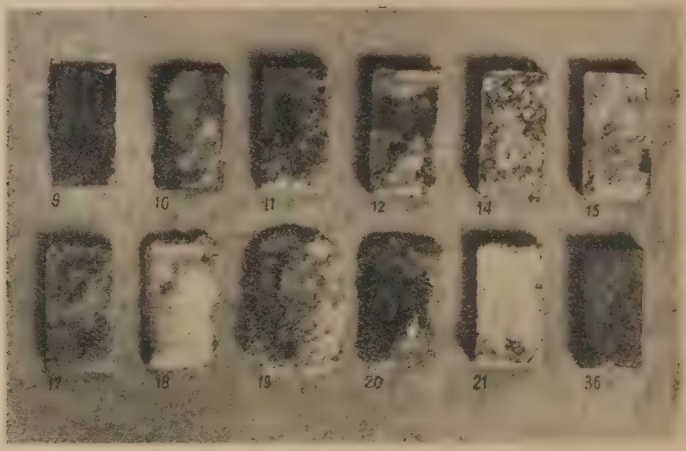
Antifungal action of some bituminous insulators and of

L. p.	Rodzaj próbki	Zewnętrzne własności próbki i konsystencja
1	Tzw „lepik budowl.“ (miękki asfalt bitum.)	Lśniąco czarny, b. miękki, rozpływa się w większych ilościach; słaby zapach
2	Tzw. „smoła izolac.“ (prod. handlowy prawdop. poch. naftowego)	Dość twarda, niejednolita, przełom matowy, porowata; słaby zapach smołowy
3	Asfalt budowlany nr 1 (gorszy gatunek)	Dość twardy, jednolity, dość kruchy, przełom szklisty, czarny
4	Asfalt budowlany nr 2 (średni gatunek)	Twardy, jednolity, przełom muszlowy, błyszczący; b. słaby zapach bitumiczny.
5	Asfalt budowlany nr 3 (dobry gatunek)	Twardy, jednolity, przełom nieco matowy. ryskowy, plastyczny; słaby zapach
6	Asfalt budowlany nr 4 (gatunek *extra*)	Twardy, jednolity, przełom matowy, plastyczny i przyczepny
7	Asfalt budowlany nr 5 (średni gat. bitumiczny)	Dość twardy, jednolity, przełom matowy; b. słaby swoisty zapach
8	Asfalt bitumiczny I (naftowy)	Szklisto-czarny, b. plastyczny, rozpływa się w większej ilości; słaby zapach
9	Asfalt bitumiczny II	Średnio twardy, przełom matowy, b. drobno porowaty, dość plastyczny
10	Asfalt bitumiczny III	Twardy, słabo błyszczący, przełom dość szklisty; plastyczny; bez zapachu
11	Asfalt bitumiczny IV	Dość miękki, bardzo plastyczny, przełom i wygląd lekko matowy; b. silny swoisty zapach
12	Pak smołowo-terowy (z koksowni G. Śląsk)	Twardy i b. kruchy, przełom szklisty; zapach wyraźnie smołowy
13	„Abizol G.“	Gęsto mazisty, ciągliwy, czarny, o silnym swoistym zapachu

lica I
bitumicznych i bitumiczno-naftowych.
Zmodyfikowana metoda konwencyjna
нефтяных асфальтов. *C. cerebella*. Модиф. конвенц. метод
bituminous asphalts. *C. cerebella*. Modified Conventional Method

Obserwacje w ciągu i po zakończeniu badań
Zaatakowany wyraźnie po około 1 tygodniu; po 3—4 tyg. pokryty bujną plechą grzybną na całej powierzchni Po skończonym badaniu całkowicie silnie obrośnięty białawą plechą. Wyraźne ślady zagłębienia plechy w próbce. Używany jako kontrolny do porównania z innymi asfaltami.
Nieco wolniej zarastający niż poprzedni, zarasta jednak całkowicie niezbyt grubą plechą, brunatniejącą pod koniec badania. Niektóre miejsca słabo przeświecają. Widać słabe działanie pewnych czynników hamujących.
Po okresie dwu do trzech tygodni próbka całkowicie zarośnięta. Plecha niezbyt gruba, przeświecająca, miejscami brunatnieje pod koniec badania.
Po 5 dniach próbka prawie całkowicie zarośnięta miejscami dość grubą białą plechą. Pod koniec badania miejscami plecha prześwieca.
Po tygodniu próbka prawie całkowicie zarośnięta gęstą i grubą plechą Pod koniec badania charakterystyczne płatkowate twory grubej, jasnej plechy. Miejscami zanikanie plechy i słabe przeświecanie.
Po 5 dniach próbka prawie całkowicie dość gęsto zarośnięta. Silna powłoka skórowata plechy. Pod koniec badania miejscami żółknąca.
Po około tygodniu próbka prawie całkowicie zarośnięta. Z czasem plecha żółknie i miejscami lekko prześwieca. Pod koniec badania silne obrośnięcie średnio grubą plechą.
Po 4 dniach próbka dość gęsto całkowicie zarośnięta. Pod koniec badania wyraźne duże i rozgałęzione spękania powłoki grzybnej (czasem „wzdęcia"). Często silne zbrunatnienie plechy.
Cała powierzchnia próbki jednolicie i dość grubo obrośnięta. Plecha do końca jasno-biała, gęsta i zbita.
Dość szybkie całkowite obrośnięcie zbitą plechą; próbka nie zmienia się. Po pewnym czasie silne zbrunatnienie i pociemnienie plechy.
Próbka dość szybko obrasta plechą, silniej po bokach. Pod koniec badania zbrunatnienie plechy i częściowy, miejscowy jej zanik. Silne pęknięcia plechy, duże „wzdęcia" z równoczesnym pęknięciem od środka.
Próbka bardzo słabo zaatakowana z boków, rzadkie nitki plechy brunatniejącej i zamierającej. Wygląd gładki i błyszczący.
Zupełnie nie atakowany przez plechę grzybową. Wokół próbki rozwój plechy całkowicie zahamowany.

dany pak koksowniczy, o bardzo miernych wartościach hydroizolacyjnych, posiada większą odporność na działanie grzybów.



Rys. 2. — Wygląd różnych próbek asfaltów po wyjęciu z kolb Kolle'go. Okres badania — około 10 miesięcy. Próbka Nr 9 (pierwsza) — pak smołowo-terowy, reszta — różne asfalty izolacyjne i bitumiczne. Грибосопротивляемость разных образцов асфальтов. Срок исследования—ок. 10 месяц. Образец нр. 9 (первый)-дёгтевый пек, остальные-изоляционные асфальты

Fig. 2. — Resistance to fungi some asphalts after 10-months investigation. Sample Nr 9 (the first to left) — the pitch, others — various samples of asphalts.

Możliwości uodpornienia asfaltów bitumicznych przed grzybami domowymi

Następnie rozpatrzono możliwość uodpornienia asfaltów bitumicznych przeciw działaniu grzybów domowych, oczywiście bez zniszczenia własności izolacyjnych asfaltów.

Przede wszystkim uwzględniono możliwość dodawania przy fabrykacji asfaltów ciał silnie toksycznych, nie rozkładających się łatwo przy ogrzaniu. Substancje te powinny być nieco rozpuszczalne w wodzie, aby przy zetknięciu z wilgotną grzybnią mogły do niej przenikać.

Drugą grupą nadających się do zastosowania ciał są trudno lotne trucizny oddechowe (Falck, 1927).

Z pierwszej grupy wybrałem związki nitrofenolowe, łatwo rozpuszczalne w asfaltach i działające silnie toksycznie, a bardzo słabo rozpuszczalne w wodzie. Ze względu na ich wysoką cenę, użyłem zrazu ta-

nich, technicznych, odpadkowych związków nitrofenolowych o niedokładnie znanym składzie, a dla kontroli — czysty dwunitrofenol. Szczegółowe wyniki zestawione są w tabl. II.

Tablica II

Próby uodpornienia asfaltów bitumiczno-naftowych przez dodanie nitrofenoli.
Zmodyfikowana metoda konwencyjna.
Okres badania 12 miesięcy (L. p. 1—3) i 3 miesiące (L. p. 4—6)
C. cerebella

Активирование фунгицидного действия нефтяно-битумных асфальтов примесию нитрофенолей. *C. cerebella*. Срок исследования – 12 месяц. (нр 1–3) и 3 мес. (нр. 4–6)

The effect of the admixture of nitro-phenols on the antifungal activity of bituminous asphalts.
C. cerebella. Modif. Conventional Method.
Duration of investigation — 12 months (nr 1—3) and 3 months (nr 4—6).

L. p.	Rodzaj próbki	straty w %	Obserwacje w ciągu i po zakończeniu badań
1	Asfalt miękki czysty (tzw. lepik budowl.)	0,0	Stosowany jako kontrolny. Atakowany wyraźnie do 2 tygodni, po 3 tyg. pokryty bujną plechą. Po okresie próby całkowicie silnie obrośnięty białawą plechą. Wyraźne ślady reliefu plechy.
2	Asfalt miękki z 0,5% odpadków nitrofenolowych	0,0	Bardzo słabo zaatakowany; po około 2 tyg. obrośnięty do połowy, po miesiącu — całkowicie. Plecha słabo prześwieca.
3	Asfalt miękki z 0,5% dwunitrofenolu	0,0	Wyraźne zahamowanie rozwoju plechy. Po miesiącu bardzo słabo zaatakowany. Po badaniu powierzchnia próbki w ¾ czysta i gładka.
4	Asfalt miękki z 1,0% odpadk. nitrofenolowych	1,2	Po 2 miesiącach słabo zaatakowany w części środkowej. Tworzą się bardzo cienkie żyłki grzybni.
5	Asfalt miękki z 1,0% odpadk. dwunitrofenolu	0,6	Po 2 miesiącach bardzo słabo zaatakowany w części środkowej, boki czyste.
6	Asfalt miękki z 1,5% odpadk nitrofenolowych	0,5	Po 3 miesiącach nieco zaatakowany w w części środkowej.

Badania powyższe wykazały, że około 0.5%-owy dodatek dwunitrofenolu hamuje wyraźnie rozwój grzyba na powierzchni asfaltu, lecz całkowitego zahamowania nie powoduje nawet dodatek 1.0% dwunitro-

fenolu. Ponieważ cena handlowa dwunitrofenolu jest dość wysoka, stosowanie go nie byłoby opłacalne. Natomiast tanie substancje odpadkowe działają o wiele słabiej, przy czym, wskutek działania grzybni aktywność ich maleje jeszcze bardziej. Wadą tych substancji jest ich niejednolitość i zmienna wartość grzybobójcza.

Sądzę jednak, iż dalsze badania przeprowadzone nad szeregiem różnych substancji (np. chloropochodne fenoli) mogłyby dać zadowalający rezultat.

Spośród lotnych toksycznych substancji zbadałem oryginalną izolację sztuczną „Abizol". Była to gęsto-mazista, czarna masa izolacyjna, stosowana na zimno zamiast asfaltu. Według danych firmy produkującej „Abizol", składał się on z azbestu i bitumu naturalnego z dodatkiem żywic i ciężko-lotnych olejów specjalnych. Próbka około 4.5 g ogrzewana w 105° przez 5 godzin straciła na wadze 17.8%. Próbki badane w kolbach Kollego przez okres 8 miesięcy straciły na wadze 19—23% wskutek ulatniania się olejów. Substancje lotne działają bardzo silnie grzybobójczo, zabijając grzybnię dookoła próbki. Są one również wchłaniane przez asfalt kontrolny, powodując jego rozpłynięcie się. Jest to więc typowy przykład uodpornienia asfaltu przez dodatek trucizn lotnych, które w zmodyfikowanej formie można by zastosować do asfaltów bitumiczno-naftowych.

Wartość grzybobójcza asfaltów bitumiczno-naftowych może być zatem sztucznie zwiększona.

II. PRAKTYCZNA WARTOŚĆ GRZYBOBÓJCZA TECHNICZNYCH SOLI O-DWUNITROKREZOLI

Spośród wielu stosowanych w praktyce impregnacyjnej technicznych soli dwunitrokrezoli do badań wybrano preparat „Mikrosol".

„Mikrosol" jest według prospektu (Lutz, 1936) „specjalną formą technicznych o-dwunitrokrezoli". Wg Buba-Bodmara i Tilgera (1922) jest to nieczysty o-dwunitrokrezolan potasu, jak zaś podaje Falck (1927) ma to być sulfo-dwunitrokrezolan potasu. Próby wykonane przeze mnie wykazały, że jest to sól potasowo-sodowa, nie zawierająca siarki, co wskazywałoby na to, że jest to techniczny o-dwunitrokrezolan potasowo-sodowy w postaci pasty o zawartości około 70% suchej substancji *).

Preparat rozpuszcza się dobrze w wodzie, dając barwę pomarańczowo-brunatną i słaby swoisty zapach. Impregnuje drewno, nadając mu pomarańczowo-żółty kolor.

Nitrokrezole stosowano do impregnacji drewna od bardzo dawna. Już w roku 1892 niemiecka f. Bayer opatentowała sposób impregnacji drewna rozpuszczalny-

*) Suszono do stałej wagi w temp. 60°—90°, a następnie krótko w 105°.

mi w wodzie solami dwunitroortokrezoli, zwanymi „Antinonnin", a wytwarzanymi w postaci pasty złożonej z dwunitrokrezolanu potasu, mydła i wody (Mahlke, Trochel, 1926). Również preparaty: „Antigermin", „Raco" i in. zawierały dwunitrokrezole.

Substancje te są praktycznie dobrze rozpuszczalne w wodzie, stosunkowo silnie toksyczne, mało lotne, bez silnego zapachu oraz są adsorbowane przez drewno podobnie jak barwniki.

BADANIA WŁASNE

Przede wszystkim starano się znaleźć stopień toksyczności preparatu przy pomocy nieco zmodyfikowanej metody konwencyjnej (Liese, 1935) i metody płytkowo-klockowej (Iwanowski i Turski, 1932). Ponadto przeprowadzono praktyczne próby z drewnem naturalnie zagrzybionym. W końcu zbadano odporność przeciwgrzybową drewna zaimpregnowanego a następnie wyługowanego wodą.

Zastosowano czyste hodowle *C. cerebella*, *M. lacrymans* i *P. vaporaria*, opisane w cz. I pracy.

Modyfikacja metody konwencyjnej polegała na tym, że do badania użyto drewna z bielu świerkowego, jako trudniej się impregnującego. Również ze względów praktycznych stosowano po trzy próbki w jednej kolbie (patrz rysunki), przeważnie bez podkładek szklanych *), umieszczając dwie próbki impregnowane oraz próbkę kontrolną.

Modyfikacja ta nie wpływa zasadniczo na wyniki praktyczne. Poza tym postępowano jak w metodzie konwencyjnej. Okres badania: 3—4 miesięcy, zależnie od gatunku grzyba. W metodzie płytkowo-klockowej użyto takich samych klocków (1,5×2,5×5,0) utrzymując też identyczne warunki. Metoda ta pozwala zbadać zachowanie się zakażonego drewna przy silniejszym dopływie powietrza (płytka Petriego o średnicy 15 cm, wysokości 3 cm).

Próby praktycznej odporności drewna zaimpregnowanego 2% roztworem „Mikrosolu" przeprowadzono w dużych płytkach Kocha o średnicy około 24 cm, wysokości około 9 cm, kładąc próbki na drewnie lub obok drewna wziętego z budynku silnie zagrzybionego przez *M. lacrymans*. Potrzebną wilgotność powietrza utrzymano z pomocą mokrej waty.

Według przepisów firmy (Lutz, 1936) drewno powinno się moczyć w 2%-owym „Mikrosolu" (2 kg pasty na 100 l wody).

*) Modyfikacja ta wprowadzona przez autora dla celów praktycznych ma swoje uzasadnienie w obowiązujących metodach standartowych: niemiecka metoda — DIN DVM 2176 (Schultze, 1940) przewiduje umieszczanie w kolbie jednej próbki impregnowanej i jednej kontrolnej, angielska metoda — (B. St. No 838) (Findlay, Hunt) dwu próbek impregnowanych sąsiednimi stężeniami, a próbki kontrolnej w oddzielnej kolbie. Wymieniona tu modyfikacja jest połączeniem obu tych metod.

Przy silnych nasyceniach używano też podkładek szklanych.

Przy maksymalnym, praktycznie osiągalnym nasyceniu drewna, wynosi to dla powyższego roztworu wg Falcka (1927): $w = 10 \frac{c\ o}{v}$ kg m³, gdzie: w = ilość kg substancji nasycającej na 1 m³ drewna, c = stężenie roztworu w procentach, o = objętość pochłoniętego przez próbkę płynu w ml, v = objętość próbki (klocka) w cm³, przy czym maksymalna objętość pochłoniętego płynu wynosi 677 l m³.

W normalnym klocku badawczym o objętości 1.5 × 2.5 × 5.0 cm = 18.75 cm³ ilość pochłoniętego płynu o = 12.7 ml, a więc $w = 10 \frac{2.12.7}{18.75} = 2 . 6.77 = 13.54$ kg m³.

Ilość tę osiągnąć można przez zupełne nasycenie w próżni drewna sosnowego. W praktyce przy powierzchownym smarowaniu lub krótkim moczeniu ilość ta, zwłaszcza dla drewna świerkowego, jest znacznie mniejsza.

Jako normę praktyczną można przyjąć ilość płynu impregnującego, pochłoniętego przez klocek zanurzony na przeciąg jednej godziny w odpowiedniej ilości płynu ogrzanego z początku do temp. 80° i pozostawionego do ochłodzenia*). Równa się ona mniej więcej ilości impregnatu, pochłoniętego przez drewno przy moczeniu na zimno w ciągu około 12 godzin. Dla stosowanych do badania klocków świerkowych i stężenia 2% „Mikrosolu" wynosi ona około 3 ml płynu (czyli około 160 l m³) co odpowiada:

$$w = 10 \frac{2.3}{18,75} = 3,20 \text{ kg/m}^3 \text{ impregnatu.}$$

Tę ilość należy zatem uważać za praktycznie osiągalną, minimalną normę nasycenia dla różnych gatunków drewna i w stosunku do niej oznaczać wartość grzybobójczą badanego środka. Taką bowiem ilość środka impregnacyjnego jesteśmy w stanie doprowadzić do drewna w praktyce prymitywnymi sposobami nasycania np. w budownictwie.

Musimy też stosować takie stężenia roztworów nasycających, by przy osiągalnym praktycznie nasyceniu przekroczyć przynajmniej 2- 3-krotnie tzw. liczbę wartości grzybobójczej (Falck, 1927) środka impregnacyjnego, czyli minimalne nasycenie w kg na m³, hamujące rozwój grzyba w próbie laboratoryjnej. Jeżeli w praktycznych warunkach stężenia takiego nie można uzyskać, środek ten nie nadaje się do impregnacji prymitywnej, czyli bez użycia próżni i ciśnienia.

Badania stopnia zniszczenia drewna przeprowadzono drogą wagową oraz dotykowo-mechaniczną (Liese i współpracownicy, 1935).

Grzybnia *C. cerebella* dość szybko atakowała próbki kontrolne, natomiast jakby unikała próbek zaimpregnowanych (rys. 3a). Dopiero po okresie około 1 miesiąca następowało wyraźne zaatakowanie próbek niedostatecznie zabezpieczonych, a przy końcu badania płecha obrastała je bardzo gęsto i często całkowicie (rys. 3b). Fakt ten, obserwowany też w innych przypadkach, dowodziłby, że „Mikrosol" posiada słabe włas-

*) W praktyce stosuje się podobny sposób tzw. „gorąco-zimnych kąpieli" (Gołdin, 1951).

ności trucizn lotnych, które albo w warunkach badania szybko zanikają albo też grzybnia się do nich przyzwyczaja.

Rys. 3 a

Rys. 3 b

Rys. 3. (a, b). Grzybobójcze działanie „Mikrosolu" — *C. cerebella*. K. — próbki kontrolne. a — po 2-u tygodniowym okresie działania grzyba. b — po 4-o miesięcznym okresie działania grzyba.

Грибосопротивляемость образцов древесины, импрегнированных „Mikrosol"-ом *C. cerebella*. K — контрольные образцы, a — срок исследования — ок. 2 недель. b — срок исследования ок. 4 месяц.

Fig. 3. (a, b) Antifungal action of „Mikrosol". — *C. cerebella*. K. — control blocks. a. after 2 weeks of contact with mycelium. b. after 4 months of contact with mycelium.

Jak wskazuje tablica III straty bezwzględne próbek przekraczają stale 5%, co przy metodzie konwencyjnej uważa się za górną granicę dopuszczalnego błędu doświadczalnego. Odnosi się to również do próbki nasyconej w stopniu praktycznie osiągalnym przy prymitywnym sposobie impregnacji tj. około 3.0 kg/m³. Dopiero przy nasyceniu około 10 kg/m³ strata bezwzględna równa się praktycznie zeru. Widzimy więc, że aby „Mikrosol" w warunkach laboratoryjnych zahamował wzrost *C. cerebella*, należy zastosować 2—3-krotną normę osiąganą przy prymitywnym nasyceniu (p. str. 236). Należałoby zatem kilkakrotnie nasycać drewno roztworem 2%-owym lub też zastosować dwu- lub trzykrotnie większe stężenie (4%—6%).

Przy szczegółowej obserwacji otrzymanych w metodzie konwencyjnej wyników badań nad wartością grzybobójczą niektórych (zwłaszcza rozpuszczalnych w wodzie) preparatów impregnacyjnych zauważyć możemy

Tablice III, IIIa, IIIb.

Wartość grzybobójcza technicznych soli o-dwunitrokrezoli („Mikrosol")

Фунгицидные свойства технических солей о-динитрокрезолей („Mikrosol")

Antifungal activity of technical salts of o-dinitrocresols („Mikrosol").

C. cerebella M. k.

L.p.	Nasycenie w kg/m³		Okres badań	% bezwzględ. straty próbki		% straty wzgl.	Obserwacje wzrokowe
	pasta	s. masa	w mies.	badan.	kontr.		
1	0,43	0,30	4	10,75	14,48	74,2	Wybitnie obrośnięte ciemno brunatną plechą. Silne zbrunatnienie i zniszczenie drewna próbki.
2	1,12	0,78	4	10,70	14,48	73,8	Objawy prawie identyczne, jak w próbce poprzedniej.
3	1,23	0,86	4	15,89	22,53	70,05	Silnie obrośnięta gęstą plechą. Drewno zbrunatniałe i silnie zniszczone.
4	1,33	0,93	4	14,75	20,98	70,2	Próbka silnie obrośnięta z boków, drewno silnie zniszczone od środka — wiotkie
5	1,76	1,23	4	13,32	20,98	63,4	Próbka silnie obrośnięta grubą plechą. Silnie zniszczone i zbrunatniałe drewno.
6	2,45	1,72	4	7,17	22,53	31,7	Próbka słabo obrośnięta od góry, silniej — z boków. Drewno zniszczone, szczególnie od spodu.
7	3,09	2,22	3	13,94	25,26	54,9	Próbka silnie obrośniętą z boków i z góry ciemną plechą. Dość silne zniszczenie drewna. Plamistość i podatność.
8	10,67	7,47	3	0,23	21,62	1,65	Widać ślad zaatakowania od spodu próbki. Drewno od spodu plamisto-zbrunatniałe.

pewną nieproporcjonalność strat próbek badanych w stosunku do stopnia ich nasycenia środkiem konserwującym (np. za mały lub za duży skok, większa strata przy silniejszej impregnacji niż przy słabszej itp.) Przyczynę tego wyjaśnia porównanie bezwzględnych strat próbek badanych ze stratami bezwzględnymi odpowiadających im próbek kontrolnych. Okazuje się, że straty próbek kontrolnych wcale nie są we wszytkich kolbach takie same (p. opis metody konwencyjnej str. 227). Pomijając możliwy wpływ różnorodności samych próbek, liczyć się należy ze swoistymi warunkami badania w poszczególnych kolbach. Mianowicie przy

Tablica III a

M. lacrymans M. k.

L.p.	% roztw. pasty	Nasycenie w kg/m³ pasta	Nasycenie w kg/m³ s. masa	Okres badań	% bezwzględn. straty próbek badan.	% bezwzględn. straty próbek kontr.	% straty wzgl.	Obserwacje wzrokowe
1	0,1	0,80	0,56	3	(3,70)	42,66	(8,67)	Próbka bardzo silnie zamokła. Bardzo słabe nadniszczenie.
2	0,4	2,77	1,94	3	11,81	42,66	27,7	Próbka silnie obrośnięta gęstą plechą. Drewno silnie nadniszczone od góry; z dołu mokre i pociemniałe.
3	0,7	4,45	3,12	3	0,0	47,39	0,0	Próbka pokryta plechą. Lekkie pociemnienie drewna i słabe nadmoknięcie.
4	1,0	5,15	3,61	3	0,56	47,39	1,18	Próbka pokryta plechą. Słabe pociemnienie od spodu, ślady nadniszczenia i słabe zawilgocenie.

P. vaporaria M. k.

1	0,1	0,80	0,56	4,7	13,27	15,77	84,3	Próbka wyraźnie zaatakowana od dołu. Drewno silnie zniszczone z boków i w środku.
2	0,7	4,11	2,87	4,7	8,39	15,77	52,1	Próbka słabo, lecz wyraźnie zaatakowana od spodu. Drewno od góry niezmienione, od spodu silnie zniszczone.

identycznych zewnętrznych warunkach w pewnych kolbach zniszczenie drewna jest silniejsze niż w innych. A więc słabą stroną metody konwencyjnej jest to, że nie wykazuje ona rzeczywistego stopnia zniszczenia próbek impregnowanych w stosunku do próbek kontrolnych. Inne znaczenie ma przecież 5% strata bezwzględna próbki badanej przy 10% stracie bezwzględnej próbki kontrolnej, a inne — przy 50%. W pierwszym przypadku aktywność grzybni i stopień zniszczenia drewna jest pięć razy większy niż w drugim. Dlatego wprowadzono pojęcie tzw. straty względnej, obliczonej w stosunku do straty odpowiedniej próbki kontrolnej. Oblicza się ją, dzieląc procent straty bezwzględnej badanej próbki przez procent straty odpowiadającej jej próbki kontrolnej.

Należy uwzględnić, że w każdej kolbce istnieją odmienne nieco warunki*. Wyjaśnia nam to przyczynę tego, że próbki o stracie bezwzględnej

* Stąd uważam za konieczne stosowanie w metodzie standartowej próbki kontrolnej w każdej kolbce.

Tablica III b

C. cerebella M. pł.

L. p.	Nr próbek na rys.	Stęż.% roztw. pasty	Nasycenie w kg/m³ pasta	Nasycenie w kg/m³ s. masa	Okres badań w mies.	% bezwzględn. straty próbek badan.	% bezwzględn. straty próbek kontr.	% straty wzgl.	Obserwacje wzrokowe
1	49	0.1	0.75	0,53	4	10.53	10.03	104.8	Próbka bardzo silnie i całkowicie obrośnięta ciemną grzybnią. Drewno ciemno plamiste, bardzo wyraźnie zniszczone w miejscach zaatakowania i słabiej — ogólnie.
2	48	0.4	2,83	1,99	4	1,20	10,03	11,7	Próbka zaatakowana z boków i z góry do ¼. Drewno częściowo zniszczone w miejscach zaatakowania przez grzybnię.
3	47	1,0	6.77	4.74	4	0.02	10,03	0.2	Próbka zupełnie czysta, grzybnia zabita i wyschnięta. Drewno zupełnie nie zmienione.

Uwaga: M. k. — zmodyfik. metoda konwencyjna.
M. pł — Metoda płytkowa.

niższej od 5% wykazują jednak niekiedy wyraźnie miejscowe zniszczenie. Jeżeli porównamy ich bezwzględną stratę ze stratą próbki kontrolnej, procent straty może się okazać wcale pokaźny. Podane w tablicy III straty względne obrazują dość jasno wpływ stopnia nasycenia. Oczywiście i tu są wyjątki, lecz spowodowane już zmianą czynników, jak np. sposób nasycenia, nadmierne zawilgocenie drewna itp. (Liese 1931).

M. lacrymans zachowywał się nieco inaczej. Grzybnia rozwijała się bardzo bujnie i otaczała klocki ze wszystkich stron, zakrywając je nawet od góry. Z biegiem czasu jednak na dostatecznie zaimpregnowanych próbkach przysychała, ginęła nie niszcząc drewna. Nasycenie minimalne „Mikrosolem", wystarczające do zahamowania niszczącego działania grzybni *M. lacrymans* w warunkach laboratoryjnych, jest tu niższe i wynosi około 4 kg/m³ (tablica IIIa). Dla prawdziwego grzyba domowego *M. lacrymans* „Mikrosol" jest zatem silniejszą trucizną. Potwierdziły to zresztą i późniejsze próby praktyczne.

Stopień nasycania potrzebny do zahamowania rozwoju *P. vaporaria* jest jednak wyższy (tablica IIIa), i wynosi mniej więcej tyle, co dla *C. cerebella*.

Wyniki otrzymane w zmodyfikowanej metodzie konwencyjnej świadczą, że wymaganę graniczne nasycenie drewna świerkowego „Mikrosolem" dla *M. lacrymans* wynosi około 4 kg m³, dla innych pospolitych grzybów domowych około dwa razy więcej. Jest to zatem nasycenie dwa razy większe, niż przewidują przepisy oraz niż osiąga się przy pomocy jednorazowego, prymitywnego impregnowania.

Metoda płytkowo-klockowa (Iwanowski i Turski, 1932), zastosowana jedynie dla kontroli, wykazała, że przy silniejszym dostępie powietrza, jaki zapewnia szeroka płytka Petriego, grzybobojczość „Mikrosolu" wzrasta — wymagane nasycenie spada do 1.5—2.0 kg m³ (patrz tabl. IIIb). Potwierdzono to również w próbie praktycznej z naturalnie zagrzybionym drewnem.

Jak widzimy na rys. 4, intensywny rozwój nałożonych na klocki skrawków grzybni nastąpił tylko na próbce kontrolnej i na bardzo słabo

Rys. 4. — „Mikrosol" — metoda płytkowo-klockowa. *C. cecebella*. — Okres badania 4 miesiące. Widać silny rozwój grzybni na próbce kontrolnej (K) i na słabo zaimpregnowanej — (nr 49); próbka Nr 48 słabo zaatakowana; na próbce Nr 47 grzybnia prawie zupełnie nie rozwinęła się.

„Mikrosol". Чашечно - брусковый метод. *C. cerebella*. Срок исследования—ок. 4 месяц. Сильное развитие грибницы на контрольном образце (K) и на слабо импрегнированном (нр 49); образец нр 48 слабо атакован; на образце нр 47 грибницы почти нет.

Fig. 4. — „Mikrosol"; Wood-block method; *C. cerebella;* Duration of investigation — 4 month. Note the abundant growth of the fungus on control block (K) and on the weekly impregnated one (49). Block Nr 48 — only partly overgrown with mycelium; Block Nr 47 almost free from the fungus.

zaimpregnowanej. Na silniej zaimpregnowanej próbce grzybnia została zabita.

Ciekawy jest przypadek stymulującego działania „Mikrosolu" przy bardzo słabym nasyceniu nim drewna (nr 1, tablica III b); strata bezwzględna próbki impregnowanej jest większa niż strata próbki kontrolnej.

Próbę odporności drewna nasyconego w 2% „Mikrosolu" przeprowadzono w warunkach zbliżonych do tych, w jakich znajduje się w naturze drewno impregnowane. Próbka stykała się z drewnem silnie zagrzybionym przez *M. lacrymans* oraz znajdowała się w warunkach temperatury i wilgotności optymalnych dla rozwoju tego grzyba.

Rys. 5. — Próba praktycznej odporności próbek nasyconych „Mikrosolem" b — drewno z budynku silnie zagrzybionego *M. lacrymans*, c — wilgotna wata. I. silny rozwój grzybni — początek fazy zaatakowania drewna impregnowanego. II. zanik grzybni — koniec fazy zaatakowania drewna.

Грибосопротивляемость образцов импрегнированных „Mikrosol"-ом, b—древесина из здания очень сильно зараженного *M. lacrymans*, c—влажная вата, I—сильное развитие грибницы—начало фазы атакования. II—исчезновение грибницы—конец фазы атакования древесины

Fig. 5. — Resistance to fungal attack of the wood — blocks impregnated with „Mikrosol"; b — wood from house strongly infected with *M. lacrymans*, c — wet cotton-wool. I — the aboundant growth of the mycelium at the beginning of the experiment. II — the toxic effect at the final stadium of the experiment.

Próby takie nastawiono w dwu słojach szklanych z zagrzybionym drewnem. Obserwacje prowadzono około pół roku. Grzybnia zrazu przerzucała się dość szybko na zaimpregnowane próbki i część z nich pokrywała(rys. 5, słój pierwszy). Nie zaatakowane pozostały niektóre próbki, szczególnie leżące niżej, co można tłumaczyć działaniem lotnych trucizn. Z biegiem czasu grzybnia na próbkach powoli przysychała i zanikała, nie pozostawiając wybitnych śladów zniszczenia drewna. Zahamowanie rozwoju grzybni następowało również na drewnie zagrzybionym w najbliższym sąsiedztwie próbek, choć rozwijała się ona nadal na oddalonej nieco, wilgotnej wacie (rys. 5, słój drugi). Świadczyłoby to o skutecznym działaniu „Mikrosolu", przy nasycaniu nim drewna w stopniu osiągalnym w praktyce.

Wyniki powyższe są mniej więcej zgodne z wynikami otrzymanymi metodą konwencyjną oraz metodą płytkową. Należy jednak pamiętać, że odmiana grzyba domowego pochodząca z terenu mogła być mniej żywotna i aktywna niż odmiany standartowe, używane do badań toksyczności środków grzybobójczych.

Tablica IV

Próba wymywalności „Mikrosolu". Badanie odporności przeciwgrzybowej próbki wyługowanej

C. cerebella. Zmodyfikowana metoda konwencyjna

Грибосопротивляемость образцов импрегнированных препаратом „Mikrosol" после промывания. Модиф. конвенц. метод.

The resistance to fungal attack of wood — block impregnated with „Mikrosol" and then eluted with water.

C. cerebella. Modif. Conventional Method

L.p	stęż.% roztw. pasty	Nasycenie w kg/m³ pasta	s. masy	Okres badań mies.	%bezwzględn. straty próbek badan	kontr	% strat wzgl.	Obserwacje wzrokowe
1	(2.0)	(12.75)	(8.93)	3	(6.31)	21,76	29,0	Próbka wyraźnie obrośnięta jasną plechą . Silne zbrunatnienie i zwiotczenie obejmuje około 4/5 powierzchni drewna.

Przebadano też odporność przeciwgrzybową dostatecznie silnie zaimpregnowanego drewna, poddanego następnie wyługowaniu. Klocek o nasyceniu „Mikrosolem" odpowiadającym 12.75 kg m³ suszono i płukano na lejku wodą wodociągową, dość miękką, o temperaturze 18°, z szybkością przepływu około 0.5 l godz. W ciągu pierwszych 48 godzin

wodę przepuszczano stale, następnie po 12 godzinnym płukaniu robiono 12 godzinną przerwę dla wyrównania dyfuzji. Ogółem do ługowania klocka o objętości 18,75 cm^3 zużyto około 37 l wody. Następnie po podsuszeniu klocek ten razem z próbką kontrolną zbadano wg zmodyfikowanej metody konwencyjnej. Rezultatem 3-miesięcznego działania grzybni *C. cerebella* była strata bezwzględna 6,31% (tablica IV). Nastąpiło więc wyraźne zaatakowanie próbki.

„Mikrosol" daje się zatem wyługować z drewna, choć jak widać z powyższych liczb, wyługowanie takie w praktyce musiałoby trwać bardzo długo.

Reasumując otrzymane wyniki, widzimy, że „Mikrosol", wybrany jako przedstawiciel technicznych soli o-dwunitrokrezoli, nadaje się do prymitywnego impregnowania drewna, dając mu wystarczającą odporność przeciwgrzybową; powinno się go jednak stosować w wyższym niż podają przepisy stężeniu, szczególnie do smarowania powierzchniowego, oraz dłużej nasycać ciepłym roztworem.

III. WARTOŚĆ GRZYBOBÓJCZA TZW. SULFOKWASÓW NAFTOWYCH

Wśród wielu zastosowań jakie znalazły tzw. sulfokwasy naftowe oraz ich pochodne (Petrow i Rabinowicz, 1932, Pilat i Kisielow, 1948), wymienić można również próby zastosowania ich jako środków impregnacyjnych dla drewna i jako preparatów grzybobójczych.

Przede wszystkim wspomnieć należy o ciekawych badaniach rosyjskiego badacza Chariczkowa (1899), który pierwszy badał właściwości toksyczne i grzybobójcze produktów kwasowych ropy naftowej oraz zalecał stosowanie ich w postaci soli metali ciężkich np. miedzi. Do impregnacji stosowano je w roztworze ligroiny.

Zarówno badania Chariczkowa, jak i badania innych autorów (Adiasewicz, 1902, Seidenschnur, 1909, Baier, 1937), wykazały, że wartość przeciwgrzybowa znanych produktów nafto-pochodnych jest praktycznie bardzo mała. Wg nowej literatury technicznej i sprawozdawczej (Wagner, 1943, Nowak, 1937) produkty naftowe nie mają własności grzybobójczych, a ich wartość polega na własnościach hydroizolacyjnych.

Mimo to istnieje nadal dążność do wyosobnienia z ropy naftowej produktów o silniejszych własnościach grzybobójczych.

Obecnie otrzymano metodą techniczną, opracowaną przez Pilata, Seredę i Szankowskiego (1933, 1939), stosunkowo czyste sulfokwasy naftowe.

Substancje te mają wiele cennych zalet wymaganych od środków impregnacyjnych i przeciwgrzybowych: zdolność obniżania napięcia powierzchniowego płynu impregnacyjnego i hydroforową zdolność zwiększania jego wnikliwości w drewno, zdolność hydrotropową wprowadzania większych ilości środków impregnacyjnych do roztworu i do drewna, prawie zupełny brak zapachu, stosunkowo słabe zabarwianie drewna, niski koszt produkcji, brak toksycznego działania na organizm ludzki (Pilatowa-Neuman, 1934, Pilat i Kisielow, 1948).

BADANIA WŁASNE

Zbadano kilka postaci technicznych sulfokwasów naftowych pod względem ich własności grzybobójczych oraz poczyniono szereg prób przystosowania ich do celów impregnacyjnych, szczególnie sposobami prymitywnymi.

Badania nad toksycznością przeprowadzono według nieco zmodyfikowanej metody konwencyjnej, podobnie jak w cz. II.

Próbę toksyczności przeprowadzono z razu z trzema produktami technicznymi, bogatymi *, w kwasy naftenowe i sulfokwasy naftowe, mianowicie:

a) z „Sulfolanem", produktem płynnym, stosowanym jako emulgator przy nasycaniu podkładów kolejowych, o składzie chemicznym: 22% naftenianów i sulfonianów sodowych, 75% oleju mineralnego, 1% wody; resztę stanowią mydła niewydalające się i zanieczyszczenie mineralne;

b) z „Kontaktem B", produktem płynnym używanym do rozszczepiania tłuszczów i stosowanym w przemyśle tekstylnym, o składzie chemicznym:

53% wolnych kwasów, 12% popiołu, 10% oleju mineralnego, 5% kwasu siarkowego, 31% wody;

c) z tzw. „Mydłami naftenowo-sulfonowymi", gęstą pastą, stosowaną z olejem kreozotowym i chlorkiem cynku jako emulsja do impregnacji drewna sposobem kotłowym, o składzie chemicznym:

53% sulfonianów sodowych, 15% oleju mineralnego, 7% naftenianów sodowych, 23% wody.

Wypróbowano odporność kawałków drewna nasyconych maksymalnym stosowanym w praktyce stężeniem tj. 5%. Pięcioprocentowe roztwory tych produktów mają postać jednolitej emulsji. Wyniki badań zestawiono w tabl. V.

Wartość grzybobójcza tych substancji rośnie mniej więcej proporcjonalnie do zawartości w nich sulfonianów i naftenianów oraz wolnych kwasów. Najsłabsze działanie grzybobójcze posiada „Sulfolan" o zawartości 22% naftenianów i sufonianów sodowych; nasycenie około 6 kg na m³ drewna prawie nie chroni go przed grzybem. Silniejszym działaniem grzybobójczym, przy prawie dwukrotnie większej wnikliwości w drewno świerkowe**), odznacza się „Kontakt B".

Strata bezwzględna impregnowanej nim próbki przeliczona na nasycenie stosowane przy pozostałych preparatach waha się około wielkości przyjętej za znamienną dla zaatakowania drewna. Należy jednak uwzględnić toksyczne działanie przymieszki 5% wolnego kwasu siarkowego.

* Otrzymanymi z firmy „Polmin".

**) Warunki nasycenia dla wszystkich klocków były jednakowe, mianowicie krótkie nasycenie pod zmniejszonym ciśnieniem (560 mm Hg).

Tablica V

Własności grzybobójcze niektórych produktów zawierających sulfokwasy naftowe *C. cerebella.* Zmodyfikowana metoda konwencyjna

Фунгицидные свойства некоторых продуктов, содержащих нефтяные сульфокислоты. Модиф. конвенц. метод

Antifungal activity of some products containing petroleum sulphonic acids. *C. cerebella.* Modif. Conventional Method

L p.	Rodzaj substancji badanej	% stężen. i apie gnacyjnego	Nasycenie w kg/m³	Okres badań w mies.	g bezwzględn. straty próbki		% straty wzgl	Obserwacje wzrokowe
					badan.	kontr		
1	Sulfolan	5	6,13	3,5	13,02	16,92	76,95	Próbka bardzo silnie obrośnięta dużymi kępkami plechy. Drewno brunatne i wyraźnie nadniszczone.
2	Kontakt B	5	10,99	3,5	2,16	19,21	11,25	Próbka dość słabo obrośnięta, szczególnie od góry i boków. Drewno brunatne słabo nadniszczone.
3	Mydła nafteno-sulfonowe	5	6,61	3,5	0.73	15,87	4,60	Próbka bardzo słabo obrośnięta z boków. Drewno jasne bez widocznego zniszczenia.

Najsilniejsze działanie grzybobójcze wykazuje emulsja „Mydeł naftenowo-sulfonowych" o zawartości 60% sulfonianów i naftenianów sodowych. Przy nasyceniu 6.6 kg/m³ praktycznie chronią one drewno zupełnie (strata bezwzględna bliska zeru).

Oprócz sulfonianów i naftenianów sodowych w pewnym stopniu grzybobójczo działają drobne ilości zawartych w badanych produktach fenolosulfokwasów i ich soli oraz oleje mineralne i niekiedy inne zanieczyszczenia techniczne, które przy impregnacji gromadzą się głównie na powierzchni drewna.

Ponieważ produkty te, jak np. „Krezonaft", mogą być i częściowo były stosowane sposobami kotłowymi jako emulgatory do emulsji impregnujących drewno, przeto ich działanie grzybobójcze wzmacnia ogólne działanie konserwujące pozostałych składników emulsji.

Właściwe badania grzybobójczości dotyczyły technicznie czystych sulfokwasów naftowych, w postaci alfa- i gamma-soli, otrzymanych metodą Pilata, Seredy i Szankowskiego (1933)*.

* Przybliżony wzór sumaryczny oczyszczonych alfa-sulfonianów sodowych $C_{28}H_{28}SO_3Na$, zaś gamma sulfonianów sodowych $C_{17}H_{13}SO_3Na$.

Badania nad alfa- i gamma-solami sulfokwasów naftowych przeprowadzono przy użyciu grzyba *C. cerebella*. Solami tymi w stężeniu 5% i 0,5% nasycono normalne klocki drewniane. Po zważeniu, osuszeniu i powierzchniowym wyjałowieniu ich w płomieniu włożono je do kolbek Kollego, po trzy na każdą kolbę włączając w to próbkę kontrolną.

Okres badania w optymalnych warunkach temperatury i wilgotności (18°—22° i 60%—70% wilgotności względnej powietrza) trwał trzy miesiące. Podobnie zbadano techniczne gamma-sulfoniany wapniowe, jako łatwiej rozpuszczalne od gamma-sulfonianów sodowych; użyto je w postaci pasty zawierającej 54% suchej substancji. Nasycenie, przeliczone na suchą masę, było w obu przypadkach zbliżone. Wyniki badań zestawiono w tablicy VI.

Tablica VI

Wartość grzybobójcza alfa-sulfonianów sodowych i gamma-sulfonianów wapniowych *C. cerebella*. Zmodyfikowana metoda konwencyjna

Фунгицидные свойства натриевых алфа-сульфонатов и кальциевых гамма-сульфонатов. Модиф. конвенц. метод

Antifungal activity of sodium α-sulphonates and calcium γ-sulphonates. *C. cerebella*. Modif. Conventional Method

L. p.	Nr próbek na rys.	Rodzaj substancji	% roztw. impregnacyjn.	Nasycenie w kg/m³	Okres badań w mies.	% bezwzgl. straty próbki		% straty wzgl.	Obserwacje wzrokowe
						badan	kontr		
1	26	α-sulfoniany sodowe (surowe, suche)	5	18.83	3	2,66	10,10	26.33	Próbka całkowicie zarośnięta plechą popielatawą, gęstą. Drewno ciemne, plamiste, słabo zaatakowane.
2	27	α-sulfoniany sodowe (j. wyż.)	0.5	2,88	3	7,95	10,10	78,75	Próbka zarośnięta jak poprzednia. Drewno silniej nadniszczone jeszcze dość mocne.
3	29	γ-sulfoniany wapniowe (pasta 54%)	5 pasty	33,92 pasty 18,33 s. masy	3	0,0	9,71	0,0	Próbka słabo obrośnięta ciemno brunatną plechą z boków. Drewno zbrunatniałe, nie zniszczone.
4	30	γ-sulfoniany wapniowe (j. wyż.)	0.5 pasty	3,52 pasty 1,89 s. masy	3	6,06	9,71	62,40	Próbka zarośnięta dość silnie ciemno brunatną, gęstą plechą. Drewno wyraźnie nadniszczone.

Pewne charakterystyczne właściwości toksyczne tych substancji zauważono już przy oglądaniu próbek. Grzybnia mianowicie atakowała

dość szybko próbki kontrolne, natomiast nie porastała próbek nasyconych roztworami sulfonianów (rys. 6), rosnąc dopiero w pewnej odległości od nich nawet po szkle ponad próbkami. Dopiero nieco później grzybnia zaatakowała też próbki impregnowane powierzchniowo, obrastając je częściowo w postaci dość gęstej i grubej plechy o barwie ciemno-brunatnej. Ciekawe jest jednak, że próbki obrośnięte plechą nie wykazują zniszczenia wewnętrznego wcale lub tylko bardzo małe (np. próbki nr 29 i 26). Grzybobójczość tych substancji na powierzchni drewna po początkowym krótkim działaniu zanika zatem prawie zupełnie. Mimo to dostateczna ilość sulfonianów w głębi drewna chroni jego wewnętrzne partie od zniszczenia.

Rys. 6. — Przeciwgrzybowe własności soli sulfokwasów naftowych. *C. cerebella*. Okres około 1 tygodnia. I. alfa — sulfoniany sodowe, II. gamma — sulfoniany wapniowe. K. — próbki kontrolne.

Грибосопротивляемость образцов древесины насищенных солями нефтяных сульфокислот. *C. cerebella*. Срок—ок. 1 недели. I—натриевые α-сульфонаты. II—кальциевые γ-сульфонаты

Fig. 6. — Antifungal properties of the salts of petroleum sulphonic acids *C. cerebella;* Duration of investigation — 1 week. I — sodium α — sulphonates, II — calcium γ — sulphonates. K — control blocks

Jak widać z tablicy VI, sole wapniowe gamma-sulfokwasów są silniej toksyczne wobec *C. cerebella* niż sole alfa-sodowe. Drewno nasycone tymi ostatnimi do tego samego stopnia ulega już nadniszczeniu (próbki nr 29 i nr 26).

Jeżeli uwzględnimy, że przy prymitywnych sposobach nasycenia, np. krótkim moczeniu itp., drewno świerkowe wchłania zaledwie około $^1/_4$ tej

ilości impregnatu, jaką nasycono próbki w powyższych badaniach, to okaże się, że nasycenie 5% roztworem sulfonianów bez zastosowania próżni w żadnym wypadku nie zapewni trwałej ochrony drewna przed grzybami domowymi.

Same techniczne sulfoniany, tak alfa-sodowe, jak nawet nieco silniej toksyczne gamma-wapniowe, nie mogą być zatem uważane za dostatecznie silne środki grzybobójcze.

Wielokrotne smarowanie lub moczenie drewna również nie daje lepszych wyników, gdyż wzrasta przy tym jedynie nasycenie powierzchniowe, co, jak widzieliśmy z poprzednich badań, oddziałuje ochronnie tylko przez pewien czas.

Próby na działanie hydrotropowe i hydroforowe wypadły na ogół słabo dodatnio. Nawet dwuprocentowy dodatek alfa-sulfonianu sodowego nie zwiększył, lub tylko nieznacznie zwiększył ilość wchłanianego płynu impregnacyjnego przy prymitywnym nasycaniu. Zaobserwowano przy tym jednak ciekawe zjawisko jakby uaktywniania innych środków impregnacyjnych, szczególnie związków nitrowych. Mianowicie pod wpływem dodatku 2% alfa-sulfonianu sodowego do 2%-owego roztworu „Mikrosolu" zwiększa się kilkakrotnie jego działanie grzybobójcze, mimo że ilość wchłoniętego impregnatu prawie się nie zmienia. Ani sam 2% roztwór „Mikrosolu" stosowany sposobem prymitywnym, ani same alfa-sole sodowe w użytym nasyceniu nie chronią drewna przed zniszczeniem przez grzyb *C. cerebella* (straty bezwzgl.: 13,94% i 7,95%). Natomiast obie substancje razem wzięte nadają dostateczną trwałość próbce (strata 1,59%, a więc poniżej błędu doświadczalnego). Tego rodzaju działanie uaktywniające należałoby sprawdzić na szeregu innych środków impregnacyjnych.

Próby uaktywniania technicznych sulfokwasów naftowych

Powyższe zjawisko skłoniło mnie do przeprowadzenia badań nad uaktywnieniem technicznych soli sulfokwasów naftowych i jednoczesnym polepszeniem ich własności fizyko-chemicznych jako środków impregnacyjnych.

Mieszano je z silnymi środkami grzybobójczymi, jak fluorek sodu, krzemofluorek sodu, krzemofluorek magnezu, arsenin sodu, dwunitrofenolany, trójchlorofenolany. Najciekawsze wyniki dały połączenia technicznych alfa-sulfonianów sodowych z pewnymi odpadkowymi produktami nitrowania związków aromatycznych. Otrzymano ciemno zabar-

wioną substancję w postaci proszku, bardzo łatwo rozpuszczalnego w wodzie. Roztwór ma barwę ciemnowiśniową. Substancję tę nazwano X_5. Nie posiadała ona żadnego zapachu ani innych ujemnych cech. Zabarwiała drewno na piękny kolor mahoniowy, łącząc się z drewnem dość trwale.

Najciekawszą cechą tej substancji było o wiele lepsze wnikanie w drewno, w szczególności w dębowe i bukowe, niż samych alfa-sulfonianów.

Zdolność wnikania w drewno zależała od stopnia związania się alfa-sulfonianów ze związkami nitrowymi. Przy dobrym związaniu wnikliwość 2%-wego roztworu była kilkakrotnie większa niż roztworu samych alfa-soli sodowych, szczególnie stosowanych na gorąco*.

Grzyboodporność próbek nasyconych preparatem X_5 badano, jak poprzednio, zmodyfikowaną metodą konwencyjną. Impregnację klocków, ze względu na specjalny cel tych badań, przeprowadzono sposobem prymitywnym, nasycając je wprost na gorąco** lub też na zimno przez około 12—13 godzin. Rezultaty badań przy użyciu grzyba *C. cerebella* przedstawia tablica VII. Własności toksyczne nowej substancji X_5 są wyraźnie większe, nawet przy bardzo słabym nasyceniu. Np. w próbce o nasyceniu 0,8 kg m^3 drewna, zniszczenie drewna leży blisko praktycznej granicy zaatakowania (5% straty bezwzgl.). Jak widać, na rys. 7 powierzchniowa odporność przeciwgrzybowa klocków zaimpregnowanych produktem X_5 jest początkowo dość duża. Grzybnia wyraźnie ich unika, choć silnie atakuje próbki kontrolne. Z czasem powierzchniowa grzybo-odporność słabnie i luźna grzybnia pokrywa próbki z zewnątrz, w szczególności słabiej impregnowane, nie niszcząc ich jednak wewnątrz. Słabą grzyboodporność powierzchniową można jednak w różny sposób powiększyć.

W porównaniu z czystymi alfa-sulfonianami sodowymi, grzybobójczość preparatu X_5 jest mniej więcej 15—20 razy większa. Jednocześnie korzystne własności, jak duża wnikliwość w drewno, piękny kolor, występują o wiele dobitniej. Cały zabieg związany jest z niezbyt kosztowną i prostą technicznie przeróbką.

Próba wymywalności wodą na lejku wykazała możliwość częściowego wyługowania tego środka przez silne wymywanie (około 20 l wody w ciągu około 54 godzin tj. przeszło 50 tzw. „lat wymywania"); barwa drewna jednak prawie się nie zmienia. Próbki nasycone prymitywną

---

* Same produkty odpadkowe nitrozwiązków nie rozpuszczały się zupełnie w wodzie.

** Wspomnianą wyżej metodą autora.

Tablica VII

Wartość grzybobójcza preparatu „X$_5$". pochodnego sulfonianów naftowych
C. cerebella. Zmodyfikowana metoda konwencyjna

Фунгицидные свойства деривата нефтяных сульфонатов, препарата „X_5".
Модиф. конвенц. метод

Antifungal activity of the „X_5", a derivate of petroleum sulphonates.
C. cerebella. Modif. Conventional Method

L. p.	Nry próbek na rys	Rodzaj substancji	Stęż. % roztw. impreg.	Nasycenie w kg/m^3	Okres badań w mies.	% bezwzgl. straty próbki		% straty wzgl.	Obserwacje wzrokowe
						badan	kontr.		
1	63	PREPARAT „X_5"	0'5	0,80	3.3	5.25	14,81	33,46	Próbka słabo zaatakowana. Zniszczenie drewna w miejscu działania grzybni.
22	64	PREPARAT „X_5"	1.0	1 60	3.3	0.91	14,81	6.15	Próbka zaatakowana kępkowo bujną, białą plechą. Drewno plamiste, od spodu ze śladami zniszczenia.
3	67	PREPARAT „X_5" **	1,0	1,92	3.3	1,05	10.83	9 70	Słabe miejscowe zaatakowanie świeżą plechą grzyba. Drewno zewnętrznie niezmienione, słabo zaatakowane.
4	66	PREPARAT „X_5" *	2.0	2,67	3,3	0,98	10.83	9,05	Słabe zaatakowanie od spodu; ślądy plam od spodu.

** Nasycane przez moczenie w temperaturze około 20° przez 12—13 godzin.

* Nasycane metodą prymitywną autora.

metodą 1% i 2%-owymi roztworami preparatu X_5, a następnie wyługowane w powyższy sposób, wykazały zrazu dużą grzyboodporność powierzchniową (próbka z 2% stężeniem była zupełnie czysta ponad miesiąc; próbka kontrolna była wyraźnie zaatakowana). Jednak po trzech miesiącach straty bezwzględne wyługowanych próbek wynosiły 10%. Dowodziłoby to, że wymycie środka impregnacyjnego nastąpiło głównie od wnętrza próbki. Próbka została zaatakowana po przezwyciężeniu zabezpieczenia powierzchniowego. Dalsze zniszczenie drewna nastąpiło szybko.

Nadmienić tu należy, że wyługowanie próbek nastąpiło wkrótce po ich nasyceniu i prawdopodobnie preparat nie zdążył się jeszcze należycie związać z drewnem.

Powyższe próby nad uaktywnieniem i udoskonaleniem technicznych alfa-sulfonianów sodowych świadczą, że możliwe jest ich praktyczne wykorzystanie przy konserwacji drewna metodą prymitywnego nasycenia.

Rys. 7. — Grzybobójczość preparatu „X_5", pochodnego alfa-sulfonianów. Okres — około 1 miesiąca. — *C. cerebella*. K. próbki kontrolne.

Фунгицидные свойства деривата α-сульфонатов, препарата „X_5" *C. cerebella*. Срок—ок. 1 мес. К—контрольные образцы

Fig. 7. — Antifungal properties of „X_5" — the derivative of petroleum — sulphonates. *C. cerebella;* Duration of investigation ca 1 month. K — control blocks.

Praca niniejsza jest pracą doktorską. Wykonana jeszcze w latach 1937 — 1938, została zgłoszona w 1950 roku. Ze względów technicznych przy oddaniu do druku nieco ją skrócono. Po zakończeniu wojny została częściowo przerobiona i uzupełniona ze szczególnym uwzględnieniem nowszej literatury w Laboratorium Politechniki Śląskiej w Gliwicach, gdzie też kotynuuje się badania nad omawianymi tu problemami.

Na zakończenie czuję się w obowiązku podziękować Prof. Dr A. Josztowi, Kierownikowi Zakładu, za kierownictwo oraz cenne rady i wskazówki przy wykonywaniu tej pracy. Załączam również uczucia wdzięczności dla ś.p. Prof. Dr S. Pilata, ś.p. Dr E. Neuman-Pilatowej, Inż. J. Seredy, Inż. A. Wrzęla i Dr H. Mierzeckiego za zainteresowanie się pewnymi szczegółami powyższych tematów, pomoc przy ich rozwiązywaniu oraz za dostarczenie niektórych materiałów do badań.

К. Ключицки

ИССЛЕДОВАНИЕ ФУНГИЦИДНЫХ СВОЙСТВ НЕКОТОРЫХ ПРОДУКТОВ И ПРАКТИЧЕСКАЯ МЕТОДИКА ИХ ИЗУЧЕНИЯ

Резюме

I. 1. Автором обнаружены очень частые случаи обильного поверхностного развития мицелия *Merulius lacrymans* и прорастания им битумно-асфальтовых изоляций.

2. Подтверждено отсутствие фунгицидных свойств битумных толей.

3. Несколько модифицированным конвенцийным методом были исследованы фунгицидные свойства семи изоляционных коммерческих асфальтов, четырех асфальтов нефтяного происхождения а также смоляно-дегтевого пека. Культуры *Coniophora cerebella* и *M. lacrymans*. Срок исследования проб ок. 10 месяцев. Все изоляционные и битумно-нефтяные асфальты били атакованы грибницей; легче всего подвергались инвазии мицелия мягкие битумно-нефтяные асфальты, затем следовали твердые битумно-нефтяные асфальты, потом первосортные строительные асфальты и наконец асфальты средних и худших сортов. Смоляно-дегтевый пек почти не подвергался действию грибницы (табл. I, рис 2). Результаты исследований указывают на возможность разложения и ассимиляции грибом естественных битумных веществ.

4. Автором была сделана попытка увеличения грибосопротивляемости нефтяно-битумных асфальтов путём добавки ди-нитрофенолей и т. п. твердых и летучих токсических веществ (табл. II, табл. I „Abizol"). Автор получил положительные результаты. Грибосопротивляемость дегтевого пека зависит от выше упомянутых веществ.

II. 1. Автором исследованы фунгицидные свойства технических солей о-динитрокрезолей в виде препарата „Mikrosol". Автор пользовался модифицированным конвенцийным методом для грибов *C. cerebella*, *M. lacrymans* и *P. vaporaria*, а также чашечно-брусковым методом для гриба *C. cerebella*. Фунгицидные свойства в конвенцийном методе выступают при насыщении для *C. cerebella* и *P. vaporaria* 4,2–5,6 кг/м³ древесины, для *M. lacrymans*–ок. 2,8 кг м³ (табл. III, рис. 3а и 3б). Во втором методе эти свойства выступают для *C. cerebella* при насыщении 1,1–1,4 кг/м³ (табл. III, рис. 4).

В практике грибосопротивляемость образца древесины, зараженной в естественных условиях грибом *M. lacrymans*, при насыщении ок. 2 кг/м³ была вполне удовлетворительная в течении приблизительно полгода (рис. 5).

2. Автором доказана возможность лишения крепко насыщенного „Mikrosol"-ом образца фунгицидных свойств путем промывания (табл. IV).

3. Автор применил непосредственное насыщание образца древесины в горячем состоянии (80° в течении 1 часа) получая степень насыщения соответствующую приблизительно насыщению достигаемому способами примитивного импрегнирования.

4. В конвенцийный метод автором вводится понятие так называемой относительной потери исследуемого образца (отношение абсолютной потери подвергнутого исследованию образца древесины к абсолютной потере соответствующего контрольного образца), чтобы с большой точностю определить степень повреждения древесины в каждой колбе Колле.

III. 1. Автор обнаружил слабое фунгицидное действие некоторых технических продуктов, содержащих нефтяные сульфокислоты, причем это действие пропорционально процентному содержанию сульфокислот или их солей (табл. V).

2. Альфа-сульфонаты натрия и гамма-сульфонаты кальция проявляют фунгицидное действие по отношению к *C. cerebella* при насыщении ок. 15 кг/м³ для первых и ок. 5 кг/м³ для вторых.

3. Автор установил возможность активирования фунгицидных а также импрегнационных свойств нефтяных сульфонатов при помощи нитродериватов. Путем соединения технических натриевых альфа-сульфонатов с остаточными продуктами нитрофенолей был получен препарат „X_5". Этот препарат обладал очень ценными импрегнационными свойствами, особенно при применянии методов примитивного импрегнирования.

Так как препарат „X_5" действует уже при насыщении 0,8–1,0 кг/м³, то его фунгицидное действие 15–20 раз превышает действие одних только альфа-солей. Кроме того его способность проникания в глуб древесины несколько раз больше, чем у упомянутых альфа-солей (табл. VII, рис. 7).

Препарат „X_5" хорошо импрегнирует древесину (особенно бук), придавая ему окраску красного дерева, а также хорошо соединяется с волокнами дерева.

K. Kluczycki

THE TOXICITY OF SOME WOOD-PRESERVATIVES AND INSULATORS TO FUNGI AND THE METHOD OF ITS TESTING

Summary

I. It was observed that asphalto-bituminous house-insulators were very often overgrown with the mycelium of *Merulius lacrymans* L.

2. Tar-paper impregnated with bituminous substances was proved to be unresistant to fungi.

3. The toxicity to *Coniophora cerebella*, Pers, and to *M. lacrymans* of seven samples of asphalts, used as insulators, four samples of petroleum-asphalts and one sample of bituminous tar-pitch was determined by the modified Block-method. Duration of test — 10 months.

All tested substances were overgrown by fungi; especially unresistant were petroleum-asphalts, more resistant were hard asphalts and worser sorts of insulating asphalts. The bituminous tar remained almost unattacked.

The results obtained indicated that bituminous substances could be decomposed and utilised by fungi.

4. The bituminous asphalts could be made more toxic to fungi by the admixture of dinitrophenols or others volatile and solid fungicidal substances (Tables I, II).

The toxicity of pitch depends on the presence of these substances.

II. 1. The toxicity to the *C. cerebella*, *M. lacrymans* and *Poria vaporaria* of technical salts of o-dinitrocresols (commercial name „Mikrosol") was studied by the modified conventional and Wood-block dishes Methods.

The „toxic limit" of Mikrosol to *C. cerebella* and *P. vaporaria* was determined as 4,2—5.6 kg per m³ of wood, to *M. lacrymans* — as ca. 2.8 kg/m³ (Conventional Method, Table III). The Wood-block-dishes Method gaves for *C. cerebella* ca 1,4 kg/m³ (Table III).

The practical test showed that the resistance of the wood naturally infected with *M. lacrymans* and impregnated with Mikrosol was sufficient for about half a year.

2. The wood-blocks were impregnated at 80° for 1 hour. The concentration of preservative obtained was equivalent to concentration obtained by primitive method of impregnation.

3. The „Mikrosol" could be eluted by water from impregnated wood, and thus the wood made unresistant.

4. It is the author's conclusion that by evaluating of results the amount of decay should be measured by the relative losses in weight (the loss in weight of block tested expressed as percentage of the loss in weight of control block)

III. 1. The toxicity of some technical substances containing sulphonic acids was studied.

The toxicity of these substances was low and depended on the amount of sulphonic acids.

2. The „toxic limit" to *C. cerebella* of α-sodium-sulphonates was ca 15 kg per m³ of wood, of γ-calcium-sulphonates ca 5,0 kg/m³.

3. It was found that the toxicity of sulphonates could be increased by the admixture of nitro-derivates.

The preparation „X", obtained by adding nitrophenols to α-sulphonates, was shown to possess high value as a wood-preservative.

Its „toxic limit" was 0,8 — 1,0 kg per m³ of wood. It was then ca 15 — 20-times more toxic than α-sulphonates. The absorbtion of „X_5" in blocks was very good. The wood impregnated with „X_5" acquired the beautiful mahogany colour.

LITERATURA

1. Adiasewicz: Conservation du bois par impregnation avec du petrole, 1802, cyt. wg Bub-Bodmara. 2. Baier C. R.: Bakteriologische Erdölstudien, 1937, Kieler Meeresforsch 2,149. 3. Bub-Bodmar i Tilger: Die Konservierung des Holzes in Theorie u. Praxis. P. Parey, Berlin, 1922. 4. Chariczkow: Z. f. ang. Ch. 1899, cyt. wg Bub-Bodmara. 5. Falck R.: Hausschwammforschungen, 8. Fischer, Jena, 1927. 6. Findlay W. i Cartwright K.: Decay of Timber and its Prevention, London. 1948. 7. Findlay W. i Cartwright K.: Rozkład i koserwacja drewna, PWRL. Warszawa. 1951. 8. Gołdin M. M.: Antisepticzieskaja zaszczita dieriewiannych konstrukcyj I i II, Gos. Arch. Izdat., Moskwa, 1951. 9. Heinric C. i Temme Th.: Bitumen in der Praxis, Ind. Verlag-Knorre, Berlin, 1944. 10. Hunt G. M. i Garratt G. A.: Wood preservation, Mc Graw-Hill Book Comp., N York, 1938. 11. Iwanowski W. i Turski S.: Trójchlorofenole i ich zastosowanie w technice, Prz. Chem., 10, 1932. 12. Judowicz E. Z.: Materiały dla gidroiz. bet. podziemnych soorużenyi. Biostojkost'bitumnych gidroizolacjonnych materiałow. Moskwa. 1948. 13 Kluczycki K.: Grzyb domowy oraz chem. sposoby zwalczania i zapobiegania. Przegl. Chem. 1937, 1:6. 14. Kuznicow T. T.: Rozen O. B., Ter-Stiepanow L. A.: Gidroizolacja, Ak. Arch., Moskwa. 1948. 15. Liese J.: Stimulationswirkung geringer Giftkonzentration auf Holzzerstörende Pilze. Ang. Bot. 1931, 13:138. 16. Liese J.: Zur Verwendung v. Bitumendachpappen. Baugewerbe, 1935. 17. Liese, Nowak, Peters i Rabanus: Toximetrische Bestimmung v. Holzkonservierungsmitteln. Verl. Chem. Berlin, 1935. 18. Liese J.: Heutiger Stand der Holzkonservierung, Chem. Z., 1936. 60:58. 19. Liese J.: Die Bestimm. d. Pilzwidrigen Eigenschaft eines Holzschutzmittels nach d.Klötzchenmethode. Methoden zur Prüfung v. Pflanzen u.-Vorratsschutz-mitteln, 27:179. 20. Lutz: — Merkblatt über Holzzerstorende Pilze, insb. Hausschwamm, Wien, 1936. 21. Mahlke i Troschel E.: Handbuch d. Holzkonservierung, Springer, Berlin, 1928. 22. Michajłow W. W.: Neftianyje dorożnyje

bitumy, Dorizdat. Moskwa, 1949. 23. Nowak: Holzschutz, 1937. 24. Peters F.: Fäulnisserscheinungen an Dachpappen, cz. I. Schkeuditz, Vedag-Buch, 1935. 25. Peters F. Krieg i Pflug: Toximetrische Prüfung v. Steinkohlenteerimprägnieröl nach d. Klötzchenmethode, Chem. Z., 1937, 61:275. 26. Perow G. S. i Rabinowicz A. J.: Neftianyje sulfokisłoty i ich tiechniczeskoje primienienije, Wyd. II. Goschimtechizdat. Leningrad 1932. 27. Pilat St., Sereda J. i Szankowski W.: Über Mineralsulfosäuren, Petroleum, 1933, 29. 28. Pilat St.: Zarys technologii nafty, Brat. Pom. Stud. Pol. Lw., 1939. 29. Pilat St. i Kisielow W.: Własności niektórych sulfonianów syntetycznych a mydła sulfonowe z nafty. Przegl. Chem. 1948, 5. 30. Pilatowa-Neuman: Własności fizyko-chemiczne sulfokwasów. Przem. Naft. 1934, 23. 31. Robotnowa I. E., Ułulekowa M. W., Magnitskaja Z. W.: Denitryfikcja za szczioł bituma i drugich ugłewodorodow, Mikrobiologia, 1950, 19:401. 32. Schultze Br.: Prüfung d. Pilzwidrigen Wirkung v. Holzschutzmitteln, Holzsch. Pr. Forsch. I. F. 1940, 1:10. 33. Seidenschnur: Zur Frage d. Holzkonservierung, Chem. Z. 1909, cyt. wg Bub-Bodmara. 34. Skupieński F. X.: Wpływ teru smołowego na rozwój niektórych grzybów, Acta Soc. Bot. Polon., 1934, 11:35. 35. Wagner H.: Taschenbuch d. chem. Bautenschutzes, Wyd. II. Wiss Vrl. Ges. Stuttgart, 1943. 36. Walther H.: Fäulnisserscheinungen an Dachpappen, cz. II. Vedag-Buch, Schkeuditz. 1935. 37. Walther H.: Biologische Schädigungen v. Bitumendachpappen, Mitt. Dachp. Ind., 1938, 11.

K. Kuźniar

ENERGIA ROZKŁADU BŁONNIKA W GLEBACH BIAŁOWIESKIEGO PARKU NARODOWEGO

Z Zakładu Ekologii Roślin I.H.A.R. Zespół Puławy

Wpłynęło dn. 31.III.1952 r.

Celem niniejszych badań było zorientowanie się w nasileniu procesów rozkładu błonnika w charakterystycznych glebach puszczańskich Białowieskiego Parku Narodowego. Analogiczne badania przeprowadzono już uprzednio w lasach Puszczy Sandomierskiej oraz w Pienińskim Parku Narodowym (Kuźniar, 1948, 1952).

Teren, na którym wykonano badania, jest ze względu na swoiste właściwości przedmiotem zainteresowania wielu przyrodników (Karpiński, 1948). Pod względem mikrobiologicznym charakterystykę gleb puszczańskich opracowały Ziemięcka i Hauke-Pacewiczowa w latach 1948—49. Nadto przebieg zjawisk nitryfikacji i denitryfikacji był w tym czasie przedmiotem badań Michniewicza (1951). Stosunki geobotaniczne powyższego terenu przebadał w latach 1948—1951 Matuszkiewicz (1952).

1. KRÓTKI OPIS STANOWISK, W KTÓRYCH WYKONANO BADANIA

Obiektem naszych badań w Białowieskim Parku Narodowym było osiem powierzchni, na których wykonywano stałe obserwacje ekologiczne. Określenia socjologiczne wymienionych powierzchni (wg Matuszkiewicza, 1952) przedstawiają się następująco:

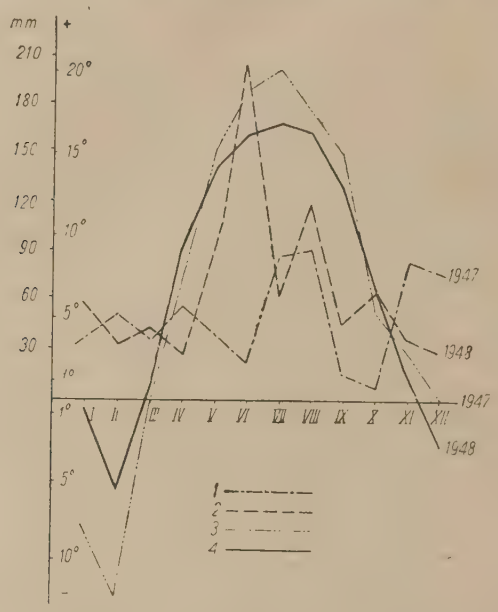
Powierzchnia I i II. *Pineto-Vaccinietum myrtilli*, Bór iglasty, porastający gleby piaszczyste, luźne, skrytobielicowe.

Powierzchnia III. *Querceto-Betuletum serratuletosum* — Bór mieszany wysoki, porastający gleby piaszczyste z małą domieszką gliny, skrytobielicowe (powierzchnia nietypowa).

Powierzchnia III A. *Querceto-Betuletum serratuletosum* — Bór mieszany wysoki z odchyleniem w kierunku Grondów (*Querceto-Carpinetum*). Porasta

gleby gliniaste, niekiedy silnie spiaszczone od góry, skrytobielicowe, (powierzchnia nietypowa).

Powierzchnia V. *Querceto-Carpinetum typicum*, — Grond wysoki, porasta gleby gliniaste mocne, częściowo spiaszczone u góry, skrytobielicowe.



Rys. 1. — Przeciętne miesięczne opadów i temperatur w latach 1947 i 1948 w Białowieskim Parku Narodowym

Objaśnienia: 1 — przeciętne opady w 1947 r.
2 — „ „ 1948 r.
3 — przeciętne temp. w 1947 r.
4 — „ „ 1948 r.

Среднее месячные температуры и осадки в годах 1947 и 1948 в Беловежском Национальном Заповеднике

Mean monthly air-temperature and fall during 1947 and 1948 in Białowieża National Park

Powierzchnia VI. *Querceto-Carpinetum stachyetosum*, — Grond niski w postaci nieco zbliżonej do Grondu typowego, porasta gleby piaszczyste płytkie z małą zawartością gliny, zalegającej na piasku gliniastym mocnym, skrytobielicowe.

Wymienione powyżej drzewostany porastają tereny piasków głębokich oraz naglinowych pochodzenia dyluwialnego.

Dwie następne powierzchnie, a mianowicie Ols jesionowy oraz przejściowe torfowisko leśne wyznaczono na glebach pochodzenia organicznego.

Powierzchnia VII. *Fraxineto-Alnetum*, — Ols jesionowy w bardzo typowej postaci, porastający gleby mułowo-bagienne.

Powierzchnia IV. Torfowisko przejściowe — leśne, typu sosnowo-brzozowego (wg Kulczyńskiego, 1940) w fazie przekształcania się torfowiska łozowego w bór bagienny. Dolinki i wgłębienia należą do zespołu *Saliceto-Franguletum*, mszyste kępki u nasady pni tworzą stadia początkowe zespołu *Betuletum pubescentis*.

Opis gleby. W warstwach wierzchnich znajduje się torf leśny sfagnowy, słabo rozłożony, który zalega na torfie trzcinowo-łozowym, silnie zamulonym. W czasie badań poziom wody gruntowej wahał się od 70 cm (w sierpniu r. 1947) do 0 cm, a nawet niekiedy sięgał powyżej powierzchni terenu (w r. 1948).

Wyniki spostrzeżeń meteorologicznych zestawiono dla lat 1947 i 1948 w wykresie 1, na podstawie danych otrzymanych z Filii Instytutu Badawczego Leśnictwa w Białowieży.*

II. BADANIA WŁASNE

Na każdej powierzchni służącej do obserwacji ekologicznych badano: 1. energię rozkładu błonnika, 2. własności fizyczne gleb, 3. własności chemiczne gleb, 4. ilość substancji organicznej opadającej z drzew i runa na dno lasu (ściołа), 5. wahania poziomu wody gruntowej.

Wyniki badań wyszczególnionych w punktach 2—5 będą opublikowane oddzielnie.

1. Metodyka badań

Badania mikrobiologiczne objęły jedynie energię rozkładu błonnika w glebach. Oznaczenie czynnej w tym procesie mikroflory prowadzono tylko orientacyjnie notując, czy błonnik atakowany był silniej przez bakterie czy też przez grzyby.

Rozkład błonnika badano w terenie w całych profilach glebowych przy pomocy poprzednio już opisanych metod (Kuźniar, 1948, 1952), gdyż było rzeczą ciekawą zorientowanie się, do jakiej głębokości i z jakim nasileniem zachodzi ten proces w badanych glebach.

W tym celu umieszczano w profilu glebowym: a) sączki z bibuły o pow. 64 cm^2 umocowane na płytce szklanej, b) pasy płótna i c) pasy celofanu przymocowanego do płótna.

Bibuła służyła do ilościowego określania rozkładu błonnika; płótno, a zwłaszcza celofan, dobrze wykazywały rozwój swoistych drobnoustrojów oraz modyfikacje, którym ulegają te produkty podczas rozkładu.

Przed użyciem wszystkie te produkty oczyszczano i wyjaławiano. Pasy płótna i celofanu miały długość 135 cm i szerokość 10 cm. Umieszczono je w profilu w głębokościach od 0—135 cm.

---

* W Białowieskim Parku Narodowym były prowadzone stałe obserwacje mikroklimatyczne przez Filię I.B.L. na powierzchniach służących do badań ekologicznych.

Płótno i bibułę zakopano do gleby w drugiej połowie sierpnia 1947 r. Celofan zakopano do takiej samej głębokości w pierwszej połowie maja 1948 r.

Doświadczenia terenowe zakończono w połowie sierpnia r. 1948, wydobywając w tym czasie z gleby błonnik.

Ogółem zbadano rozkład 24 pasów celofanu, 16 pasów płótna oraz 36 sączków rozmieszczonych na 8 badanych powierzchniach.

Odkrywki glebowe przeznaczone do badania rozkładu błonnika zrobiono na powierzchniach w pobliżu stacji mikroklimatycznych. Odległości między poszczególnymi odkrywkami wynosiły około 15—20 metrów.

2. Określenie stopnia rozkładu błonnika w glebie

Bibułę użytą do doświadczeń wykopano z gleby po upływie roku, oczyszczono ją i oznaczono w niej ubytki błonnika. Wyniki oznaczeń zestawione są w tabl. I.

Poszczególne powierzchnie uszeregowano w tablicy w zależności od składu mechanicznego gleb, poczynając od gleb najlżejszych, (pow. I, II) następnie średnich (pow. III, VI), ku najcięższym (pow. III A i V). Na końcu tablicy umieszczono gleby pochodzenia organicznego (pow. VII i IV).

Przyjęto skalę nasilenia rozkładu błonnika opartą na procentowym ubytku tego połączenia w ciągu jednego roku. Mianowicie:

1— 10%	rozkład	b. słaby
11— 30%	„	słaby
31— 50%	„	średni
51— 80%	„	silny
81—100%	„	b. silny

a) Rozkład błonnika w warstwach próchnicznych gleby

Jak wykazuje ostatnia kolumna tabl I, w powierzchniowych warstwach próchnicznych badanych gleb nasilenie rozkładu błonnika było bardzo duże. Niezależnie od składu mechanicznego i typu gleby oraz od porastającego ją drzewostanu, błonnik w okresie jednego roku został rozłożony niemal całkowicie (pow. II, III, IIIA, V) lub w silnym stopniu (pow. VI, VII i IV). Jedynym wyjątkiem były gleby w Borze iglastym (pow. I), gdzie nasilenie rozkładu błonnika było o około 50% mniejsze.

Wybrany do badań jednoroczny okres pozostawienia błonnika w glebie był więc nieco za długi w wypadku warstwy próchnicznej, gdzie oczywiście nagromadzenie drobnoustrojów i warunki przebiegu procesów mikrobiologicznych są najkorzystniejsze. Natomiast okres ten okazał się dobrze dobrany dla badania nasilenia rozkładu błonnika w całym profilu glebowym. Wystąpiły tu wielkie różnice związane z głęboko-

ścią warstwy gleby, jej składem mechanicznym i z poszczególnymi powierzchniami doświadczalnymi.

Nasilenie procesu rozkładu z reguły maleje wraz ze zwiększającą się głębokością gleby, ale odbywa się w sposób bardzo charakterystyczny dla poszczególnych powierzchni.

b) Rozkład błonnika w głębszych warstwach profilów glebowych

W piaszczystych luźnych glebach Borów iglastych (pow. I i II) poniżej warstwy próchnicznej rozkład błonnika prawie nie zachodzi. W okresie rocznym ubytek wynosił zaledwie około 10%, był zatem bardzo słaby.

Również w głębszych warstwach profilów bardziej zwięzłych gleb Boru mieszanego wysokiego (pow. III), Grondu niskiego (pow. VI) oraz Grondu wysokiego (pow. V) rozkład był słaby lub bardzo słaby.

W glebach Borów mieszanych (pow. III i IIIA) bardzo silny ubytek błonnika znajdujemy w całym zasięgu próchnicy, czyli w warstwach od 0 do 40 cm.

W glebach pow. III przejście od silnego do b. słabego rozkładu jest dość gwałtowne na głębokości około 50 cm.

Równocześnie zaobserwowano w pow. IIIA średni i silny rozkład błonnika w całym profilu glebowym w przeciwieństwie do pow. III.

W Grondzie wysokim (pow. V), gdzie skład mechaniczny profilu glebowego przypomina profil IIIA, energia rozkładu poniżej 25 cm jest słaba.

c) Rozkład błonnika w glebach organicznych

W glebach organicznych, zamulonych (pow. VII i IV) odróżniających się pod każdym względem od gleb pozostałych, rozkład błonnika był bardzo intensywny.

Zauważyć należy, że w wierzchnich warstwach wymienionych gleb ubytek był jednak nieco słabszy aniżeli w większości innych powierzchni (wynosił około 80%).

W głębszych warstwach profilów glebowych obu powierzchni ubytek błonnika był dość duży i wynosił około 50%.

3. Oznaczenie zasięgu rozkładu błonnika w profilu glebowym

Pasy płótna (zakopane na okres jednego roku), przy pomocy których określano wzrokowo nasilenie badanego procesu biologicznego zachodzącego w glebach, wykazują następujące swoiste zmiany:

Tab

Energia rozkładu błonnika w glebach

Энергия разложения клетчатки в почвах

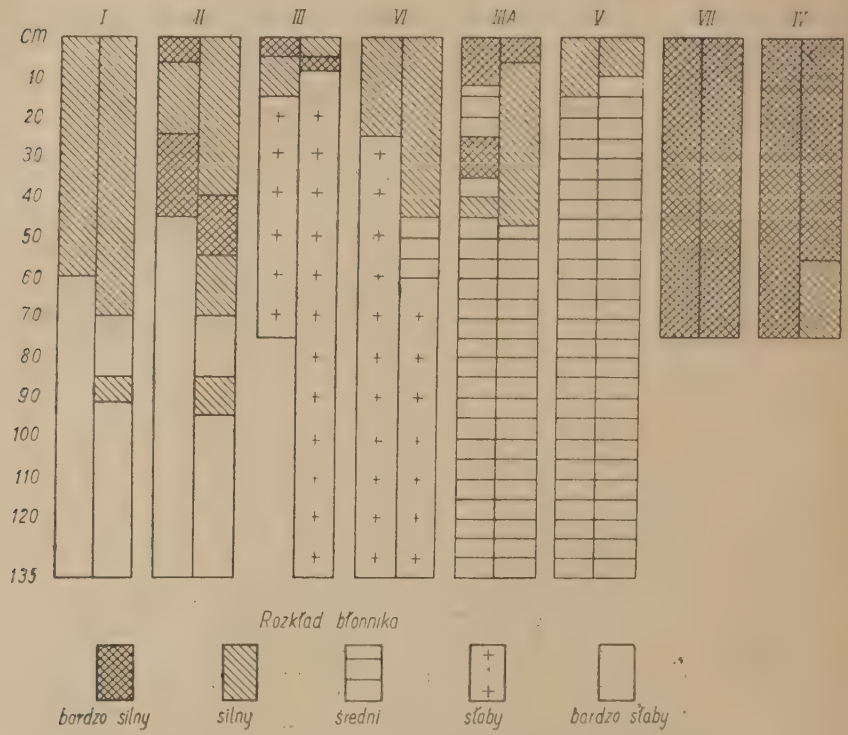
The energy of cellulose decomposition

Nazwa powierzchni	Próba gleby z głębokości w cm	Opis gleby
Pineto-Vaccinietum myrtilli Bór iglasty (pow. I)	4— 14	Warstwa próchniczna
	35— 45	„ piasku luźnego
	90—100	„ „ „
	124—134	„ „ „
Pineto-Vaccinietum myrtilli Bór iglasty (pow. II)	4— 14	Warstwa próchniczna
	15— 25	„ piasku luźnego
	40— 50	„ „ „
Querceto-Betuletum serratuletosum Bór mieszany wysoki (pow. III)	1— 11	Warstwa próchniczna
	10— 20	„ piasku gliniastego z dom. próchnicy
	30— 40	Warstwa piasku gliniastego lekkiego z dom. próchnicy
	53— 63	Warstwa piasku gliniastego mocnego
	75— 85	Warstwa piasku gliniastego lekkiego
	120—130	„
Querceto-Carpinetum stachyetosum Grond mieszany (pow. VI)	3— 13	Warstwa próchniczna
	20— 30	„ piasku słabogliniastego
	34— 44	Warstwa piasku mocnogliniastego
	90—100	„
	134—142	„
Querceto-Betuletum serratuletosum Bór mieszany wysoki (pow. III A)	3— 13	Warstwa próchniczna
	20— 30	„ piasku gliniastego mocnego z dom. próchnicy
	50— 60	Warstwa gliny średniej
	90—100	„
	125—135	„
Querceto-Carpinetum typicum Grond wysoki (pow. V)	3— 13	Warstwa próchniczna
	12— 22	„ piasku gliniastego lekkiego
	25— 35	„
	63— 73	Warstwa gliny średniej
	120—130	„ „ ciężkiej
Fraxineto-Alnetum Ols jesionowy (pow. VII)	5— 15	Gleba mułowo-bagienna silnie próchniczna
	30— 40	„
	90—100	„
	120—130	Warstwa piasku luźnego
Societas Saliceto-Franguletum cum Betuletum pubescentis Torfowisko przejściowe — leśne (pow. IV)	7— 17	Warstwa torfu niskiego silnie zamulonego
	30—40	„
	52—62	„
	80— 90	„

lica I.
Białowieskiego Parku Narodowego
Беловежского Национального Заповедника
in the soils of Białowieża National Park

Zawartość cząstek mniejszych od 0,01 mm %	Kwasowość		Ciężar błonnika w mg		% rozłożonego błonnika
	czynna pH	hydrolit.	początkowy	końcowy	
3,4	4,3	59,27	1,029	0,543	47,2
0,5	4,9	8,78	1,127	1,008	10,6
0,6	5,3	5,12	1,195	1,097	8,2
0,8	5,6	3,65	1,159	1,044	10,0
1,4	4,4	75,74	1,001	0,034	96,6
0,2	4,9	16,09	1,171	1,055	9,9
0,9	5,8	8,78	1,139	1,028	9,7
5,2	4,4	73,91	1,193	0,058	95,1
8,5	5,1	28,53	1,133	0,106	90,6
15,5	5,2	16,17	1,227	0,007	99,4
17,1	5,4	12,44	1,138	1,041	8,5
10,2	5,4	17,56	1,121	0,823	26,5
12,6	5,1	23,41	1,214	1,130	6,9
11,9	4,8	30,73	1,135	0,288	74,6
8,1	5,4	10,24	1,079	0,947	12,2
19,6	5,5	12,07	1,108	0,920	17,0
17,1	5,5	27,44	1,189	0,976	17,9
18,7	5,5	19,75	1,166	1,102	5,5
0,7	5,2	31 46	1,073	0,047	95,6
16,8	5,4	14,27	1,035	0,096	90,7
—	5,8	—	1,087	0,502	53,8
35,8	7,2	42,44	1,183	0,336	71,6
37,8	6,7	21,95	1,128	0,559	50,4
14,0	5,5	36.59	1,152	0,019	98,3
13,6	5,8	12,07	1,212	0,455	62,4
13,2	5,4	8.78	1,163	0,944	18,8
43,1	5,7	24.19	1,137	0,978	14,0
52,6	6,4	16,09	1,075	0,909	15,4
—	6,1	60,73	1,225	0,280	77,1
—	5,7	65 86	1,100	0,581	47,2
—	6,4	52,68	1,167	0,601	48,5
—	7,5	1,46	1,106	0,565	48,9
—	5,8	54,15	1,193	0,159	86,7
—	5,7	93,67	1.195	0,603	49,5
—	5,6	105,37	1,153	0 513	55,5
—	6,3	29.27	1,134	0,617	45,6

a) W glebach piaszczystych, luźnych, porosłych Borami (pow. I i II), rozkład pasów płótna jest stosunkowo silny do głębokości około 70 cm (rys. 2).



Rys. 2. — Nasilenie rozkładu błonnika w profilach gleb Białowieskiego Parku Narodowego

Интенсивность разложения клетчатки в почвах Беловежского Национального Заповедника

The energy of cellulose decomposition in the soils of Białowieża National Park

b) Na piaskach słabo i mocno gliniastych w Borze mieszanym wysokim i w Grondzie niskim atakowanie błonnika przez drobnoustroje odbywa się na całej długości (pow. III i VI). Płótno w miejscach rozwoju mikroflory wiotczeje i nabiera barwy szarej lub brunatnej. Jak wykazano, rozkład błonnika jest tu silniejszy aniżeli w pierwszej grupie gleb lekkich.

c) Na spiaszczonych glinach morenowych lub na płytkich piaskach naglinowych porosłych Grondem wysokim i Borem mieszanym wysokim

(pow. V i IIIA) wzrost drobnoustrojów na pasach płótna ma postać plam szarych, brunatnych lub czarnych. Płótno miejscami jest mocno przeżarte. Atakowanie jego przez drobnoustroje zachodzi w całym profilu.

d) W glebach próchnicznych, mułowo-bagiennych (pow. VII i IV) wzrost drobnoustrojów na płótnie jest ciemnoszary do czarnego. Rozkład pasów płótna był tu najbardziej intensywny.

Barwa zieleni malachitowej cechuje wzrost na błonniku w glebach najuboższych. W glebach zwięźlejszych (pow. III, V, IIIA, VI) oraz organicznych (pow. IV i VII) atakowany błonnik nabiera barwy charakterystycznej dla substancji próchnicznych.

Widzimy więc, że opierając się na rodzaju zmian wywoływanych w płótnie, można podzielić gleby zbadanych 8 powierzchni na cztery grupy.

4. Określanie zasięgu procesów biologicznych przy pomocy celofanu

Na celofanie wzrost drobnoustrojów jest specjalnie charakterystyczny:

a) W glebach Borów (pow. I, II, III) stwierdzono na zakopanych pasach celofanu słaby rozwój grzybów i b. nieliczne wżery bakterii. Stwierdzono atakowanie celofanu do głębokości 135 cm.

b) W glebach z pow. IIIA, V i VI mikroflorą rozwijającą się na celofanie były głównie bakterie. W warstwie próchniczej zaobserwowano również dobrze widoczne wżery strzępków grzybów. Atakowanie celofanu zachodzi do głębokości 135 cm.

c) W glebach próchnicznych (mułowo-bagiennych i torfowych zamulonych, pow. IV i VII) na całej długości celofanu rozwijały się wyłącznie bakterie, nadające celofanowi mleczno-białe, bardzo charakterystyczne zabarwienie.

Celofan nadaje się więc dobrze do śledzenia rozwoju mikroflory błonnikowej w profilach glebowych.

5. Rozkład błonnika jako jeden ze wskaźników stosunków geobotanicznych

Na podstawie przeprowadzonych badań możemy stwierdzić, że rozkład błonnika odzwierciedla dość dobrze stosunki geobotaniczne poszczególnych drzewostanów Białowieskiego Parku Narodowego.

W glebach piaszczystych, luźnych, porosłych Borami rozkład błonnika jest najsłabszy. W glebach piaszczystych, zawierających domieszkę

gliny porosłych Borem mieszanym i Grondem niskim ubytek błonnika jest silniejszy, zaś w glebach gliniastych zasobnych, porosłych Grondem wysokim i Borem mieszanym wysokim (z odchyleniem w kierunku Grondów wg Matuszkiewicza 1952), najsilniejszy.

Gleby mułowo-bagienne oraz zamulone przejściowo torfy leśne, gdzie, jak poprzednio wspomniano, rozkład błonnika zachodzi intensywnie, pokryte są Olsami w bardzo pięknej, typowej postaci oraz przejściowym Borem bagiennym, wykazującym miejscami karłowate formy wzrostu*.

Należałoby zatem sądzić, że nasilenie rozkładu błonnika nie zawsze jest właściwym wskaźnikiem aktywności biologicznej gleby. Z tego też powodu przeanalizowaliśmy bliżej warunki panujące na tych powierzchniach.

Według naszych obserwacji, obecne torfowisko przejściowo-leśne powstaje stopniowo z torfowiska niskiego. Przyczyną przejścia do obecnej fazy, wybitnie niekorzystnej dla rozwoju roślinności drzewiastej, jest niewątpliwie stopniowe „zatapianie" torfowiska przez wody pozbawione odpływu.

Doświadczenia nasze, prowadzone w okresie dwu lat różniących się bardzo stosunkami hydrologicznymi, potwierdzają słuszność takiego rozumowania.

Okazało się, że gdy w r. 1947 w czasie trwania naszego doświadczenia poziom wody obniżył się w tych glebach znacznie poniżej poziomu przeciętnego, nastąpiła w nich zmiana korzystna dla drobnoustrojów tlenowych. Zapewne dlatego rozkład błonnika był w tym czasie stosunkowo silny (patrz tabl. I, pow. IV).

W roku następnym z powodu obfitych opadów atmosferycznych poziom wody w torfowisku był niejednokrotnie wyższy od powierzchni gleby. Zakopany w maju r. 1948 błonnik (celofan) nie wykazał wówczas niemal śladów atakowania przez drobnoustroje.

Na podstawie przytoczonych danych możemy wnioskować, że w przejściowym torfie leśnym o wysokim poziomie wody gruntowej rozkład błonnika odbywa się energicznie tylko wówczas, gdy powietrze przenika w dostatecznej ilości do warstw głębszych.

W glebach mineralnych (posiadających większą pojemność powietrzną aniżeli gleby mułowo-bagienne), porosłych innymi drzewostanami np. Grondami, zanotowano w tym samym okresie (od maja do sierpnia) silny rozkład błonnika.

---

* Drzewostan olszowy posiada klasę bonitacji wyższą od 1-szej, zaś drzewostan porastający torfowisko — niższą od 5-tej.

WNIOSKI OGÓLNE

Na podstawie zastosowanych przez nas metod badania energii rozkładu błonnika bezpośrednio w profilach glebowych stwierdzono, że:

1. Za wyjątkiem bardzo ubogiej gleby piaszczystej, luźnej, porosłej Borem szpilkowym (pow. I) rozkład błonnika był silny w warstwach próchnicznych wszystkich powierzchni doświadczalnych.

2. Działalność mikroflory błonnikowej stwierdzono na ogół w całym profilu glebowym, ale nasilenie rozkładu błonnika w dużym stopniu zależało od składu mechanicznego gleby, od warunków wodnych i porastającego ją drzewostanu (tabl. I i rys. 2). Rozprzestrzenienie się mikroflory i nasilenie jej rozwoju uwarunkowane było przede wszystkim zasięgiem próchnicy i stosunkami powietrzno-wodnymi w profilu glebowym.

3. W glebach piaszczystych mikroflorę błonnikową stanowiły głównie grzyby, w gliniastych — bakterie i grzyby, w mułowo-bagiennych niemal wyłącznie bakterie.

4. Na ogół wzrost drobnoustrojów rozkładających błonnik i energia rozkładu błonnika są dość charakterystyczne dla poszczególnych powierzchni doświadczalnych w Białowieskim Parku Narodowym. Dla potwierdzenia tego potrzebne są dokładniejsze badania jakościowe.

W czasie pracy dużą pomoc w terenie okazali mi inż. Z. Niwiński oraz Danuta i Juliusz Nowakowie, abs. Wydz. Leśnego U. J. Ubytki błonnika oznaczyła w Laboratorium Gleboznawczym I.B.L. mgr K. Oleksynowa, za co składam im serdeczne podziękowanie.

K. Кузьняр

ЭНЕРГИЯ РАЗЛОЖЕНИЯ КЛЕТЧАТКИ В ПОЧВАХ БЕЛОВЕЖСКОГО НАЦИОНАЛЬНОГО ЗАПОВЕДНИКА

Резюме

Автор занялся исследованием энергии и степени разложения клетчатки в почвах Беловежского Национального Заповедника.

Исследования были проведены на участках: 1) и 2) *Pineto Vaccinietum myrtilli* (уч. I—сосна. II—сосна и ель с примесью берёзы), 3) *Querceto-Betuletum serratuletosum* (уч. III—сосна, берёза с примесью ели, дуба, граба и липы), 4) *Querceto Carpinetum stachyetosum* (уч. IV—липа, клён, осина, ель, берёза и вяз) 5) *Querceto-Carpinetum typicum* (уч. V—дуб, ель, липа с большой примесью граба и клёна). 6) *Querceto-Betuletum serratuletosum* (уч. III А, как уч. III с отклонением в сторону состава уч. V), 7) *Fraxineto-Alnetum* (уч. VII—ольха, ясень с большой примесью ели, граба, вяза и липы) а также сообществ переходного болота лесного комплекса *Saliceto-Franguletum* с *Betuletum pubescentis* (уч. IV).

Для проведения опытов автор пользовался а) фильтровальной бумагой определенного веса на стеклянной пластинке, б) лентовидными кусками полотна и целлофана длиной в 135 см и в 10 см шириной, которые закапывались в почву на срок одного года.

Энергию разложения клетчатки автор определял на основании 36 количественных обозначений. Интенсивность происходящих биологических процессов автор определял наблюдая 16 кусков полотна и 24 кусков целлофана.

Результаты разложения клетчатки иллюстрирует табл. I. Сильнее всего подвергнулась разложению клетчатка в перегнойных горизонтах. В более глубоких горизонтах убыль веса фильтровальной бумаги была самая большая в почвах органического происхождения (уч. VII и IV) и суглинистых почвах, содержащих много питательных веществ (уч V и III A). Меньшая убыль клетчатки наблюдалась в супесях, наименьшая же в песчаных почвах (уч. I и II).

Самую большую интенсивность разложения полотна автор наблюдал в органических почвах (уч. IV и VII).

Довольно сильное разложение, однако лиш до 70 см глубины, происходит в песчаных почвах (уч. I и II). В горизонтах же расположенных глубже 70 см, автором не обнаружено даже следов разложения клетчатки. В глинистых почвах с примесью песка—разложение полотна замечено на всей глубине профила.

Целлофан подвергался разложению микроорганизмами в почвенных слоях глубиной до 135 см. Процесс разложения сильнее всего выступал в глинистых почвах, слабее в супесчаных, а еще слабее в песчаных почвах. В песчаных почвах главную роль в разложении играли грибы, в суглинистых почвах и органических — бактерии.

Разложение клетчатки сравнительно хорошо отражает геоботанические отношения Беловежского Национального Заповедника.

K. Kuźniar

THE ENERGY OF CELLULOSE DECOMPOSITION IN THE SOILS OF BIAŁOWIEŻA NATIONAL PARK

Summary

The author studied the energy and degree of cellulose decomposition in the soils of Białowieża National Park in 1947/48.

The investigations were carried out on following areas: 1) *Pineto-Vaccinietum myrtilli* — Pine forest (Area I), 2) *Pineto-Vaccinietum myrtilli* — Pine and spruce forest with admixture of birch (Area II), 3) *Querceto-Betuletum serratuletosum* — Pine and birch forest with admixture of spruce, oak, hornbeam and linden (Area III), 4) *Querceto-Carpinetum stachyetosum* — Linden maple, aspen and spruce forest with admixture of hornbeam (Area VI), 5) *Querceto-Batuletum serratuletosum*, a forest stand like on area III with a deviation towards area V (Area III A), 6) *Querceto-Carpinetum typicum* — oak, spruce, linden forest with a large admixture of hornbeam maple (Area V), 7) *Fraxineto-Alnetum*, Alder-ash forest with admixture of spruce (Area VII) and plant groups of a developing transient forest peat in *Saliceto-Franguletum* and *Betuletum pubescentis* (Area VII).

The weighed pieces of filter paper placed on glass plates, or strips of linen and cellophane 135 cm long and 10 cm wide, were buried into soil for a period of 1 year.

The energy of cellulose decomposition was measured by the loss in the weight of filter paper (36 quantitative determinations). The intensity and depth of biological processes, taking place in the soil, were determined on the base of observation of 16 linen- and 24 cellophane- strips.

The results are shown in Table I.

In deeper profile layers the loss of weight of filter paper was the greatest in the soils of organic origin (Area VII and IV) and in fertile clayey soils (Area V and III a).

In sandy soils with different clay content (Area III and VI) the loss of the weight of cellulose was smaller, and the smallest in loose sandy soils (Area I and II).

The greatest intensity of decomposition of linen strips was observed in the soils of organic origin (Area IV and VII). In clayey soils, or those containing an admixture of clay, the cellulose strips were decomposed on their whole surface.

Rather strong decomposition but reaching only to the depth of 70 cm was observed in loose sandy soils (Area I and II).

The cellophane was attacked by microorganisms to the depth of 135 cm in all investigated soils, most strongly in humus and clayey soils, more weakly in sands with clay admixture and very weakly in loose sands.

In sandy soils the cellulose was decomposed mostly by fungi, in clayey and organic ones — by bacteria.

The cellulose decomposition depicts quite well geobotanical relationships of Białowieża National Park.

LITERATURA

1. Hauke-Pacewiczowa T. i Ziemięcka J. M.: Charakterystyka mikrobiologiczna gleb Białowieskiego Parku Narodowego (praca w druku). 2. Karpiński J. J.: Bibliografia Białowieska. Ochrona Przyrody, Kraków, 1948, 18:149. 3. Kulczyński St.: Torfowiska Polesia, t. 1 i 2, Kraków, 1940. 4. Kuźniar K.: Badania nad rozkładem błonnika w glebach leśnych. Wyd. Inst. Bad. Leśn. Seria A, nr 50, Kraków 1948. 5. Kuźniar K.: Energia rozkładu błonnika w glebach Parku Narodowego w Pieninach, Acta Microbiol. Polon., 1952, 1:52. 6. Matuszkiewicz W.: Zespoły leśne Białowieskiego Parku Narodowego. Annales U.M.C.S. Lublin Sectio C, Suppl. 6. — 1952. 7. Michniewicz M.: Badania nad nitryfikacją i denitryfikacją w glebach Puszczy Białowieskiej. Annales U.M.C.S. Lublin, Sectio C, 1951, 4:19.

SPIS TREŚCI

str.

B. Guzowska, B. Orzechowska i Wł. Kunicki-Goldfinger: Własności fitoncydów cebuli *Alium cepa* L. 175

H. Bylicka, B. Jarosz, I. Nowicka i Wł. Kunicki-Goldfinger: Substancje antybiotyczne porostów cz. I. 185

J. Duda i Fr. Pędziwilk: Wpływ preparatu 2,4 D i dwunitrokrezolu na mikroflorę gleb 193

A. Nowotny-Mieczyńska i M. Ruszkowska: Wpływ azotu mineralnego na rozwój szczepionych roślin motylkowych 205

K. Kluczycki: Studia nad wartością grzybobójczą niektórych produktów oraz praktyczna metodyka jej badania 223

K. Kuźniar: Energia rozkładu błonnika w glebach Białowieskiego Parku Narodowego 257

СОДЕРЖАНИЕ

стр.

Б. Ожеховска, Б. Гузовска, и Бл. Куницки-Гольдфингер: Фитонциды лука, *Allium cepa* ч. I. 175

Г. Былицка, Б. Ярош, И. Новицка и Вл. Куницки-Гольдфингер: Антыбиотики из лишайников ч. I. 185

И. Дуда и Ф. Пендзивильк: Влияние 2,4 D и динитрокрезола на микрофлору почвы 193

А. Новотны-Мечинска и М. Рушковска: Влияние минерального азота на развитие инокулированных бобовых растений 205

К. Ключицки: Исследование фунгицидных свойств некоторых продуктов и практическая методика их изучения 223

К. Кузняр: Энергия разложения клетчатки в почвах Беловежского Национального Заповедника . . . 257

CONTENTS

page

B. Guzowska, B. Orzechowska and Wł. Kunicki-Goldfinger: The phytoncides of *Allium cepa* L. 175

H. Bylicka, B. Jarosz, I. Nowicka and Wł. Kunicki-Goldfinger: Antibiotic substances from lichens p. I. 185

J. Duda and Fr. Pędziwilk: The effect of 2,4 D and dinitrocresol upon the soil microorganisms . . 193

A. Nowotny-Mieczyńska and R. Ruszkowska: The influence of mineral nitrogen on the growth of inoculated leguminous plants 205

K. Kluczycki: The toxicity of wood-preservatives and insulators to fungi and the method of its testing . 223

K. Kuźniar: The energy of cellulose decomposition in the soils of Białowieża National Park 257

kiem: tytuł pracy, nazwisko autora oraz nr rysunku lub wykresu. Objaśnienia do rysunków i wykresów należy dołączyć na osobnej kartce z wyraźnym zaznaczeniem nr rysunku i wykresu. W objaśnieniach należy podawać powiększenie. Fotografie powinny być kontrastowe, na matowym papierze. Ilość tablic i rysunków musi być ograniczona do minimum.

W maszynopisie należy zaznaczyć miejsce, w którym ma być umieszczony rysunek (wykres, fotografia) oraz dołączyć wykaz tablic i rysunków z podaniem numeracji i miejsca w tekście.

Przy powoływaniu się na piśmiennictwo należy podawać nazwiska autorów i rok publikacji, np. Cienkowski (18..) lub (Cienkowski, 18..). Jeżeli praca cytuje więcej niż jedną publikację danego autora z tego samego roku, należy to uwidocznić dodając małe litery (np. 1887 a, 1887 b itd.).

Wykaz cytowanych prac (piśmiennictwo) powinien być sporządzony w układzie alfabetycznym i powinien zawierać następujące elementy: nr porządkowy, nazwisko i inicjały autora (-ów) — dwukropek — tytuł pracy, nazwę czasopisma w przyjętych skrótach, rok, tom, ewentualnie zeszyt, stronicę czasopisma; w wypadku zaś cytowania książki: nr porządkowy, nazwisko i inicjały autora (-ów), tytuł książki, wydanie, miejsce i rok wydania, firmę wydawcy, ewentualnie stronicę tekstu.

W tekście i tablicach należy stosować przyjęte skróty, np. ml a nie cm, g — nie gr, 100° — a nie 100° C, M — molarny, N — normalny itd.

Przy opisie roztworów należy rozróżniać „%“ — g na 100 g roztworu, „% objętościowy“ — ml na 100 ml roztworu, „stężenie %“ — g na 100 ml roztworu.

Nazwy drobnoustrojów należy podawać w brzmieniu łacińskim, przy pierwszym wzmiankowaniu — w pełnym brzmieniu. Dopuszczalne jest również jednoczesne podawanie przyjętych ogólnie nazw polskich. W dalszym tekście nazwy rodzajowe (nie gatunkowe) należy skracać lub podawać tylko nazwy polskie.

Autor otrzymuje 25 odbitek bezpłatnie; o dodatkowe odbitki autor może się zwrócić do redakcji przy składaniu maszynopisu.